

Estudio oscilopolarográfico de Vitaminas

POR EL

DR. PASCUAL SALMERON SALMERON

Profesor Adjunto de la Facultad de Ciencias

INTRODUCCIÓN

La técnica de la superposición de un pequeño voltaje de corriente alterna (milivoltaje) al potencial polarográfico de corriente continua, así como el estudio de las variaciones que experimenta la componente de alterna en el electrodo de gotas de mercurio a lo largo de los potenciales de una onda polarográfica, se ha demostrado que son de gran interés para la aclaración de los fenómenos que se verifican en los procesos electródicos en relación con su cinética.

Los trabajos realizados en este laboratorio han puesto a punto dicha técnica, habiéndose diseñado un circuito adecuado para poder registrar las variaciones de la componente de alterna en distintas bases de tiempo, así como sus valores máximos por gota en función del potencial de continua que actúa sobre la gota.

Estas técnicas combinadas y el estudio de los datos con ellas obtenidos nos permiten seguir de cerca el comportamiento reversible o irreversible de los fenómenos que tienen lugar en el electrodo y que dependen de la naturaleza del sistema en estudio.

No habiéndose estudiado en este laboratorio hasta ahora reacciones de tipo orgánico, hemos considerado de interés el proceder al estudio de este tipo de compuestos aplicando los criterios y técnicas que solamente se habían aplicado en iones inorgánicos. Dentro del estudio de las complejas reacciones polarográficas de las sustancias orgánicas hemos elegido



las Tiamina, Riboflavina y Niacina (en sus formas de nicotinamida y ácido nicotínico) por ser consideradas en la literatura como casos típicos de reacciones irreversible, reversible y de tipo catalítico, al objeto de comprobar, al serles aplicada esta nueva técnica, tanto la rigurosidad de los trabajos anteriormente efectuados como la posibilidad de aportar nuevas orientaciones sobre su exacto comportamiento electrodo.

Se ha realizado simultáneamente un estudio polarográfico de estas sustancias en distintas condiciones de pH, buscando aquellas que permitan una mejor separación de ondas de estas cuatro sustancias con vistas a su determinación cualitativa y cuantitativa. De este estudio hemos seleccionado las condiciones óptimas de trabajo para el estudio oscilográfico.

RESUMEN BIBLIOGRÁFICO

LINGANE y DAVIS efectuaron los estudios preliminares de la determinación polarográfica de Tiamina, Riboflavina, Acido Nicotínico y otros factores vitamínicos B.

Sus resultados indicaban que el método polarográfico prometía ser particularmente valioso para la determinación de Riboflavina en presencia de los otros miembros del grupo vitamínico B. Los valores de los potenciales de onda media, empleando cloruro potásico como electrolito fondo, medidos frente a electrodo de calomelanos saturado, figuran en la Tabla I.

T A B L A I

pH	5,8	7,2	9,0	ClK 0,1 N
<i>Vitamina:</i>				
Riboflavina	-0,41	-0,47	-0,54	-0,35
Tiamina	a	-1,3	b	-1,25
Acido Nicotínico	a	-1,56	-1,6	-1,7
Piridoxina	a	a	-1,8 a	-2,0 ^{ad}
Acido Pantoténico	a	a		-2,0 ^c

donde *a* significa que se interpone la onda de hidrógeno, *b* señala la inestabilidad de la vitamina, *c* indica que se ha trabajado en bromuro de tetrametilamonio 0,1 M, marcando *d* la existencia de una onda doble.

El hecho de que el potencial de onda media de la riboflavina en una disolución no regulada de cloruro potásico sea más positivo que en disolución regulada de pH 5,8 es difícil de explicar, máxime teniendo en cuenta que los iones hidrógeno son empleados totalmente en la reducción.

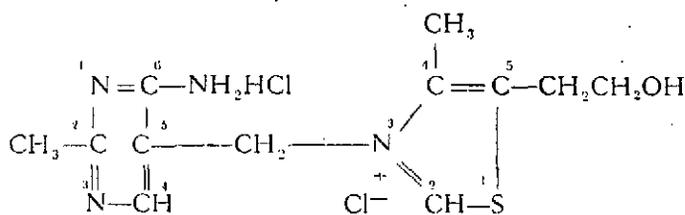
La corriente de difusión que establece la riboflavina depende un poco del pH y sobre todo del tipo de disolución reguladora empleada, por esta razón los datos de calibración para un capilar dado deber ser obtenidos en las mismas condiciones que prevalecerán en una determinación real. Se obtienen buenas ondas sobre un rango de pH de 4,0 á 9,0; como quiera que las vitaminas se descomponen en medio alcalino, el pH óptimo para su determinación debe ser próximo a 7. La corriente de difusión después de corregido i_d , es proporcional a la concentración, sobre un rango de 10^{-5} á 10^{-4} .

La corriente de difusión de la tiamina en disolución reguladora a diversos valores de pH no está bien definida y está parcialmente enmascarada por la aparición de la onda de hidrógeno en los rangos ácidos. LINGANE y DAVIS han obtenido buenas curvas en disoluciones no tampoadas de cloruro potásico 0,1 N.

Estos autores logran una curva bien definida para el ácido nicotínico en disolución reguladora de borato de tetrametilamonio de pH 9,0; a valores de pH menores de 7 la onda de hidrógeno enmascara la de ácido nicotínico y se obtiene una curva bien definida en disoluciones no reguladas de cloruro potásico 0,1 N.

De lo anterior se deduce que una disolución no regulada de cloruro potásico 0,1 N (pH=7) es la mejor disolución fondo para la determinación simultánea de riboflavina, tiamina y ácido nicotínico (1).

G. SARTORI y C. CATANEO establecen los potenciales de onda media para el clorhidrato de tiamina, en disolución 10^{-4} M, trabajando a una temperatura de 12° C. Estos valores se dan en la Tabla II (2).



Clorhidrato de Tiamina

TABLE II

pH	$E_{1/2}$	pH	$E_{1/2}$
1,81	-1,13	5,72	-1,37
2,56	-1,15	6,37	-1,40
3,29	-1,18	6,80	-1,44
4,10	-1,23	7,24	-1,46
4,56	-1,28	7,96	-1,51
5,02	-1,33	8,69	-1,52



WOLLENBEERGER manifiesta que cuando se electrolizan disoluciones diluídas de tiamina en cloruro amónico, ácido bórico y cloruro potásico mezclados, o en disoluciones reguladoras de fosfato como disolución fondo, la curva corriente-voltaje presenta una onda sobresaliente con un máximo a $-1,7$ v con respecto al electrodo saturado de calomelanos, onda que no aparece en ausencia de tiamina (3).

SHKODIN y TICHOMIVOVA hacen un estudio de determinación de tiamina en tabletas de alimentos concentrados, y observan que no interfiere el azúcar ni las vitaminas A, B₂, D ni PP, pero en cambio interfiere la vitamina C. Para evitar tal interferencia disuelven las tabletas en disolución 0,1 N de cloruro potásico (que es el electrolito fondo por ellos empleado) y oxidan la vitamina C agregando permanganato potásico al 0,4 % hasta color pardo de la disolución. Encuentran una variación del potencial de onda media de $-1,25$ a pH 6,5 a $-1,3$ a pH 8 (4).

PLETICHA en sus trabajos de determinación polarográfica de tiamina en productos farmacéuticos dice que en medio alcalino aparecen todas las ondas de la tiamina a excepción de la correspondiente a la forma tiológica (5).

TACHI y KOIDE hicieron primeramente un estudio polarográfico de la tiamina en medio alcalino y encontraron en este medio tres clases de ondas: 1.º una onda catódica inestable a un potencial de -2 V; 2.º la onda catódica de Brdicka (6) en disolución reguladora de cloruro amónico conteniendo CoCl_2 y 3.º una onda anódica con un potencial de onda media de $-0,439$ V. y demostraron que estas ondas se eliminan añadiendo ácido monoiodoacético y que la oxidación con aire cambia la onda anódica en una onda con dos trazos, uno catódico y otro anódico, eliminándose completamente la onda catalítica; lo que atribuyen a que la tiamina se transforma en su forma $-SH$ en medio alcalino a valores de pH superiores a 9,0 con rotura del anillo tiazólico, pudiendo calcularse el porcentaje de $-SH$ gráficamente de la altura de las ondas anódicas en disoluciones reguladas (7).

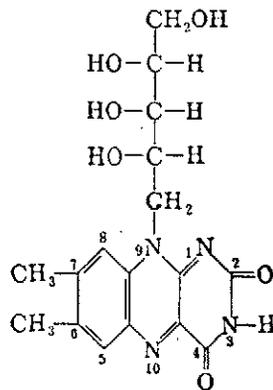
Los mismos autores hacen un estudio polarográfico de la tiamina en medio ácido y neutro en el cual encuentran la onda catódica típica, observando que si bien la onda se hace mayor con el aumento de concentración de tiamina, en cambio no puede emplearse para su determinación por estar muy afectada por el pH, se hace más clara dicha onda con la concentración decreciente de la disolución reguladora, y suponen que las reacciones electródicas que tienen lugar, son la reducción de la tiamina y la descarga catódica de los iones hidrógeno en presencia de la vitamina B₁ o de sus productos de reducción (8).

También hacen los mismos autores estudios sobre las tres formas di-

sulfuro de la tiamina, sobre dicha vitamina comparada con sus compuestos afines, y sobre un derivado tiazólico (9).

Finalmente R. PLETICHA hace un estudio detallado sobre las ondas polarográficas de la tiamina en disoluciones alcalinas que coincide con los trabajos anteriores de I. TACHI y S. KOIDE (10).

La riboflavina produce una onda de reducción en el electrodo de gotas de mercurio que va precedida por una pequeña onda de reducción anormal debida a la adsorción de la forma reducida en la gota (11).



Riboflavina

El potencial de onda media de la onda principal concuerda con el potencial determinado potenciométricamente, en tanto que el de la onda anómala se presenta a un potencial más positivo.

La onda anómala observada, que aparece antes de la de reducción de la riboflavina se considera debida a la adsorción de los productos de reducción por la luz y es comparable a los resultados obtenidos con el azul de metileno. Analizan detenidamente las curvas corriente-voltaje considerando las debidas a la formación de *semiquinona*, y parece ser que únicamente es adsorbible la leucoforma de la riboflavina.

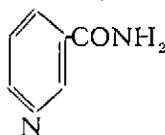
De la altura de la onda de adsorción calculan que la superficie de Hg está saturada cuando son absorbidos $8,6 \cdot 10^{-13}$ mol/cm². El coeficiente de difusión de la riboflavina cambia de $7,41 \cdot 10^{-6}$ mm/seg. en disolución $4,75 \cdot 10^{-5}$ M a $5,64 \cdot 10^{-6}$ mm/seg. en disolución $3,8 \cdot 10^{-4}$ M. La cinética del fenómeno de adsorción la han estudiado con un oscilógrafo de rayos catódicos; las curvas obtenidas de corriente-tiempo presentan dos retrasos máximos debidos, uno a la adsorción separada de la semiquinona y otro a la leucoforma de la riboflavina, suponiéndose que el retraso representa un período de transformación en el cual la forma originariamente

no adsorbible de los productos de reducción cambia al isómero adsorbible (12)

El método polarográfico es aconsejable para la determinación cuantitativa de riboflavina, ya que la corriente de difusión es proporcional a la concentración en el rango de 10^{-4} a 10^{-3} M, dando buen resultado en la determinación de la riboflavina contenida en levaduras. Este método ha sido también empleado por BRDICKA para estudiar la fotólisis de la riboflavina (13).

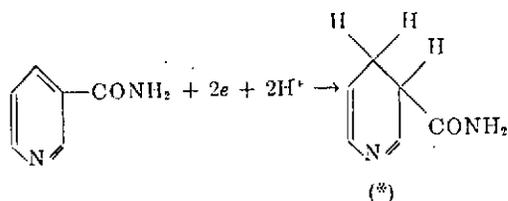
Y. MORI y K. MURATA han estudiado los polarogramas de la riboflavina y sus derivados en un amplio rango de pH (14) y PORTILLO ha determinado polarográficamente la riboflavina en extractos hepáticos (15).

El comportamiento polarográfico de la nicotinamida difiere del de la



piridina y los demás ácidos piridincarboxílicos en que en ésta se presentan dos ondas (16).

La primera onda está bien definida y se presenta en disolución reguladora de pH 8 ó superiores. La corriente de difusión de esta onda varía con el pH y es proporcional a la concentración. La reducción corresponde a un cambio de dos electrones y se sugiere la siguiente reacción del electrodo:



El potencial de onda media es independiente de la concentración y varía de $-1,56$ a pH 8,7 en disolución reguladora de borato, a $-1,75$ a pH 13 en sosa 0,1 N, con electrodo de calomelanos saturado.

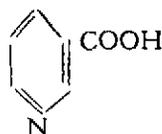
La segunda onda se presenta en potenciales más negativos que la primera siendo una onda catalítica que se forma por la reducción del producto de la primera etapa (*); esta onda tiene un máximo observándose un allanamiento a una concentración de $5 \cdot 10^{-3}$ M. En las proximidades de la parte alcalina, la onda catalizada aparece aproximadamente a un pH de 7,24 y aumenta al acidificar la disolución, desapareciendo el máximo

a un pH de 4,56 y fundiéndose la onda con la del hidrógeno a este mismo valor de pH (17).

Para la determinación cuantitativa de nicotinamida se trabaja con la onda normal de reducción, empleando como disoluciones fondo cloruro potásico 0,4 N, hidróxido sódico 0,1 N, carbonato sódico 0,1 N, o en una disolución reguladora (18).

Se han efectuado trabajos sobre el desprendimiento catalítico de hidrógeno en el electrodo de gotas de mercurio debido a la acción de la amida del ácido nicotínico y otros derivados de la piridina (19) (20); así como sobre la determinación polarográfica de nicotinamida en preparados medicinales (21).

El ácido nicotínico produce una onda catalítica de hidrógeno que se



manifiesta en un rango de pH de 1 a 10. Las mejores ondas aparecen en disoluciones reguladoras de borato a valores de pH comprendidos entre 8 y 10, y en estas condiciones la corriente no es proporcional a la concentración, a menos que la concentración sea mayor de 0,6 M; a un pH de 8,7 el potencial de onda media es $-1,66$ v (frente al electrodo de calomelanos saturado) y cambia con el pH (en disolución de fosfato, en 90 mV por cada unidad de pH).

La altura de la onda decrece al aumentar el pH y desaparece cuando el ácido nicotínico está todo en forma de sal potásica a pH 9,2. Para disoluciones 10^{-4} M de ácido nicotínico en ácido clorhídrico 0,1 M, la corriente límite es de 5,1 microamperios y en borato sódico 0,6 M a pH 8,7 es de 1,0 microamperio.

Puesto que tanto el pH como la composición de las disoluciones reguladoras ejercen una gran influencia sobre la corriente de difusión, debe trabajarse con gran cuidado en la determinación cuantitativa, recomendando como disoluciones fondo el ácido clorhídrico 0,4 y 0,1 M (1).

TOMPkins y SCHMIDT sugieren que el ácido nicotínico cataliza la reducción de iones hidrógeno en el electrodo de mercurio y en consecuencia se presenta una reducción secundaria producida por el hidrógeno naciente (22).

También han trabajado estos autores sobre la caracterización polarográfica del ácido nicotínico y compuestos afines (23), (24), (25).

PARTE TEÓRICA

La mayoría de las reducciones polarográficas de compuestos orgánicos son *irreversibles*. Vamos por lo tanto a estudiar estas ondas así como también su dependencia de la correspondiente estructura química.

Hay un efecto digno de ser considerado cuando se trabaja con reacciones irreversibles y es que con frecuencia el potencial de onda media resulta desplazado a potenciales más positivos y la altura de onda disminuye por la adición de cationes multivalentes, este efecto aumenta con el incremento de la concentración del catión y con el peso atómico creciente de los mismos.

En las reducciones irreversibles es con frecuencia desconocida la naturaleza del producto de reducción, a pesar de su importancia para la formulación de la reacción del electrodo, debido a que la cantidad de producto formado es tan pequeña que escapa a la identificación analítica.

La cantidad necesaria para la identificación se puede obtener por electrolisis prolongada en un cátodo grande de mercurio en condiciones similares a aquellas en que tiene lugar el análisis polarográfico. Tales preparaciones electrolíticas son esenciales cuando se emplean moléculas orgánicas complejas y cuando la reacción a estudiar carece de antecedentes químicos o polarográficos (26).

El control de los potenciales es necesario cuando aparecen varias ondas y se desea conocer la naturaleza de cada una de ellas, no siendo aconsejables los trabajos electrolíticos en gran escala a potenciales controlados por necesitarse mucho tiempo para ellos. El producto formado en la electrolisis en estas condiciones, puede no ser igual que el producto formado en el electrodo de gotas de mercurio, pudiendo también ser un dímero del producto intermedio que se forma, pero en cualquiera de los casos la naturaleza del compuesto aislado es siempre de interés para la interpretación de la reacción del electrodo.



Cuando la separación de los productos electrolíticos es difícil, los factores más importantes para la deducción del mecanismo de la reacción en el electrodo de gotas de mercurio en orden de importancia son:

1.º La determinación del número n de electrones por medidas voltamétricas y por la ecuación de ILKOVIC o mediante una comparación con el comportamiento polarográfico conocido de un compuesto de forma similar (27).

2.º Las propiedades químicas de las sustancias en cuestión.

3.º La variación de los potenciales de onda media con el pH.

4.º La pendiente de la onda.

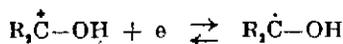
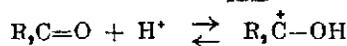
La determinación de n por medidas voltamétricas es el método más preciso y es empleado sobre todo cuando el número de electrones que reaccionan es muy grande. En las reducciones que sólo toman parte unos pocos electrones por molécula, n puede ser determinado por sustitución de los valores calculados del coeficiente de difusión en la ecuación de ILKOVIC:

$$i_d = 605 \cdot n \cdot D^{1/2} \cdot m^{2/3} \cdot [C \cdot t]^{1/6} \quad \text{microamp.}$$

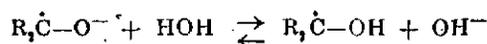
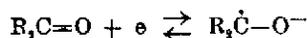
Los valores de n pueden dar una indicación del producto final formado en el electrodo, así por ejemplo si n es 4 en la reducción del nitrobeneno, el compuesto formado probablemente sea la fenilhidroxilamina.

Las propiedades químicas de los compuestos que intervienen son de gran importancia, ya que los productos resultantes por estar formados en el electrodo de gotas de mercurio no serían posteriormente reducibles en el electrodo y no reaccionarían con el electrolito empleado.

El desplazamiento de los potenciales de onda media a valores más negativos con el aumento del pH en disoluciones ácidas, puede algunas veces ser interpretado como una reacción directa del compuesto con un protón para formar un ión intermedio, el cual es más fácilmente reducible:



y a valores elevados de pH, se interpreta como la reducción directa de una molécula, seguida dicha reducción por una reacción del anión con el agua o iones hidrógeno en la siguiente forma (28):



Podemos resumir lo expuesto recomendando que en las reducciones irreversibles sean determinados los siguientes datos:

- 1.º Los potenciales de onda media (referidos al electrodo tipo) y su dependencia de la concentración, del pH y del medio.
- 2.º La ecuación de las ondas.
- 3.º La constante de la corriente de difusión.
- 4.º El número de electrones que intervienen en la reducción.
- 5.º El efecto del pH (siendo necesarias disoluciones reguladoras).
- 6.º El efecto de la clase y concentración de los reguladores y de los iones indiferentes sobre el potencial de onda media.
- 7.º La composición del disolvente si lo hay.
- 8.º La concentración de eliminación máxima a una concentración dada de sustancia a estudiar.

Los potenciales de onda media serán referidos al electrodo de calomelanos saturado.

Los datos anteriormente expuestos son de importancia práctica en química orgánica y tienen especial interés en relación con:

- a) El análisis cualitativo y cuantitativo de compuestos orgánicos.
- b) La determinación de estructuras.
- c) La relación entre la estructura y los potenciales de onda media.
- d) El mecanismo de electro-reducción.
- e) Los efectos de las sustancias orgánicas en el sobrevoltaje de hidrógeno (34).

Potenciales de reducción aparente y su relación con los potenciales de onda media.—En muchos casos de la relación entre el potencial y la corriente i , e ($i_d - i$), se obtiene una ecuación que tiene la misma forma que para las reacciones reversibles.

Los sistemas irreversibles se caracterizan por un potencial aparente de reducción, siendo este potencial el que corresponde a la reducción del 20 al 30 % de la forma oxidada en cinco minutos.

Se han efectuado varias tentativas para relacionar los potenciales de onda media con los potenciales determinados por otros métodos en los sistemas irreversibles, especialmente con los potenciales aparentes de reducción. Los potenciales aparentes de reducción para gran número de reducciones irreversibles han sido empleados por CONANT (29) para determinar la velocidad con la que la forma oxidada reacciona con un sistema reversible de oxidación-reducción de un potencial de oxidación conocida. En esta reacción CONANT supone que el primer paso en la reacción es reversible e instantáneo, en tanto que el irreversible siguiente es el determinante de la velocidad. Como en toda su amplitud no puede darse una interpretación termodinámicamente satisfactoria de los poten-

ciales aparentes de oxidación, está todavía en discusión si existe o no una relación entre dichos potenciales y los potenciales de onda media.

Los potenciales de onda media y su relación con la estructura química.—Aunque los potenciales de onda media de una reacción irreversible implican siempre alguna proporción constante, es ahí precisamente donde parece estar la relación existente entre el potencial de onda media y la estructura química. Esta relación ha sido formulada por SHIKATA y TACHI (30) con la *Regla de Reducción* que dice «que los compuestos orgánicos son tanto más fácilmente reducibles cuanto más grupos electro-negativos están sustituidos en el mismo compuesto». Pareciendo existir un paralelismo entre el efecto de los distintos sustituyentes en el potencial de reducción y en la constante de ionización (31), el espectro Raman y el espectro de absorción (32).

Las dos formas en las cuales puede expresarse el desplazamiento electrónico o de polarización en la molécula orgánica son el *Efecto Inductivo* (I) y el *Efecto Tautomérico* (T). El efecto inductivo depende de las fuerzas electrostáticas y provoca una desigualdad en el reparto de los pares de electrones en los enlaces, los grupos electromagnéticos que atraen electrones son ($-I$) (por ejemplo $-\text{NH}_3^+$, $-\text{NO}_2$, Cl) en cambio los grupos que repelen los electrones se leen ($+I$) (por ejemplo $-\text{COO}^-$, CH_3).

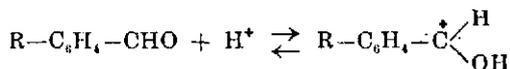
El efecto tautomérico (T) es el desplazamiento de electrones, los cuales van asociados con sistemas que contienen enlaces múltiples. El desplazamiento se verifica cuando los átomos eléctricamente no similares están unidos por un doble enlace ($> \text{C}=\text{O}$, $-\text{NO}_2$) o cuando un doble enlace carbono-carbono está unido a tales grupos, a otro doble enlace, o a un átomo que tiene por lo menos un par de electrones no compartidos ($-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$, $-\text{Cl}$). Este efecto se conoce frecuentemente como el efecto de resonancia. Aquellos grupos que atraen electrones se consideran como ($-T$) (por ejemplo $-\text{NO}_2$, $-\text{COOH}$); los grupos que ceden o desprenden electrones son grupos ($+T$) (por ejemplo $-\text{Cl}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$) (33) (empleando la terminología de Ingold).

Los efectos producidos por diversos grupos dependen no sólo de su efecto inductivo y tautomérico, sino también de su posición en la molécula y del sistema de disoluciones reguladoras empleado. Los grupos nitro y carboxilo presentan ambos un efecto inductivo ($-I$) y un efecto tautomérico ($-T$), los ($+T$) disminuyen la densidad electrónica alrededor del nitrógeno del grupo nitro y facilitan la reducción, teniéndose, que puesto que el efecto tautomérico es mayor en las posiciones orto y para, el isómero meta es más difícil de reducir.

El pH del medio tiene una influencia considerable sobre la intensidad

de acción del efecto inductivo y tautomérico, puesto que cambia la estructura de la molécula que se va a reducir.

Así muchos compuestos orgánicos que son bases muy débiles, en disoluciones reguladoras ácidas se combinan con los iones hidrógeno para formar el correspondiente ácido (Brönsted).



Este protón adicionado es muy rápido y reversible y resulta un complejo más fácilmente reducible, en el cual el efecto tautomérico sería más importante que el efecto inductivo.

Grupos oxidables y reducibles.—Los grupos reducibles en el electrodo de gotas de mercurio en condiciones adecuadas son:

- 1.—Doble enlace carbono-carbono conjugado con otro doble enlace, en anillo aromático, u otro grupo no saturado.
- 2.—El grupo carbonilo en aldehidos, cetonas y quinonas.
- 3.—Los grupos nitro, nitroso, óxidos de aminas y grupos azoicos.
- 4.—Grupos fenilhidroxilamonio, diazonio y amonio cuaternario.
- 5.—La mayor parte de los halógenos, disulfuros y peróxidos.

Los grupos oxidables en el electrodo de gotas de mercurio son las hidroquinonas y compuestos afines, n-dioles, y las sustancias que despolarizan el mercurio para formar compuestos ligeramente disociados e insolubles (por ejemplo —SH en compuestos tiólicos). Las aminas y los ácidos que no se consideran en los grupos anteriores no son reducibles, pero pueden dar ondas catalíticas de hidrógeno.

Ondas reversibles en disoluciones reguladas.—En la reducción u oxidación de sustancias orgánicas los iones hidrógeno intervienen en la reacción del electrodo.

En el caso general en que el oxidante y el reductor sean moléculas sin carga, la reacción del electrodo puede escribirse:



Ordinariamente n es igual a 2, si bien se conocen casos en que es igual a 1, y el producto reducido contiene un electrón impar, como la semiquinona.

Si la reacción anterior es reversible en el electrodo de gotas de mercurio, el potencial final vendrá dado por la ecuación:

$$E_{d,e} = E^\circ - \frac{0.0591}{n} \cdot \log \frac{C^\circ_{\text{RH}_n}}{C^\circ_{\text{R}}(C^\circ_{\text{H}^+})} \quad (2)$$

donde E° es el potencial tipo ordinario de la reacción, y las concentraciones se consideran iguales a las actividades.

En una reacción de este tipo pueden obtenerse ondas catódicas, anódicas o catódico-anódicas combinadas, dependiendo de que la disolución inicial contenga únicamente el oxidante, el reductor o una mezcla de los dos. Siendo idénticos los principios generales que los de la reducción parcial u oxidación de los iones metálicos. Es evidente que en el caso más general, cuando la disolución inicial contiene el oxidante y el reductor, se aplicarán las siguientes ecuaciones:

$$(i_d)_c = K_R \cdot C_R \quad (3)$$

$$-(i_d)_a = K_{RH_a} \cdot C_{RH_a} \quad (4)$$

$$C^{\circ}_R = C_R - \frac{i}{K_R} = \frac{(i_d)_c - i}{K_R} \quad (5)$$

$$C^{\circ}_{RH_a} = C_{RH_a} + \frac{i}{K_{RH_a}} = \frac{i - (i_d)_a}{K_{RH_a}} \quad (6)$$

En estas ecuaciones i es la corriente en un punto de la onda, e $(i_d)_c$ e $(i_d)_a$ son respectivamente las corrientes de difusión catódica y anódica. La corriente catódica (reducción de R) da un signo positivo y la corriente anódica (oxidación de R_{H_a}) un signo negativo.

Es necesario considerar que en general $C^{\circ}_{H^+}$ es corriente dependiente, puesto que el ión hidrógeno es un componente de la reacción del electrodo. Vamos primero a dar la ecuación de las ondas obtenidas con una disolución regulada suficiente; si la disolución tiene una capacidad reguladora suficiente, $C^{\circ}_{H^+}$ será virtualmente constante e igual a C_{H^+} en el seno de la disolución, en estas condiciones la ecuación general de las ondas será:

$$E_d . e = E_{1/2} - \frac{0.0591}{n} \cdot \log. \frac{i - (i_d)_a}{(i_d)_c - i} \quad (7)$$

vieniendo dado el potencial de onda media por las expresiones:

$$E_{1/2} = E^\circ - \frac{0.0591}{n} \log \frac{K_R}{K_{RH_a}} + 0.0591 \cdot \log C^{\circ}_{H^+} \quad (8)$$

ó

$$E_{1/2} = E^\circ - \frac{0.0591}{n} \log \frac{K_{Rf}}{K_{RH_a}} - 0.0591 \cdot \text{pH} \quad (8 a)$$

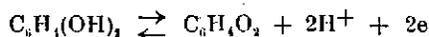
La ecuación 7 se aplica a las ondas catódicas, anódicas o catódico-anódicas combinadas, y la ecuación 8 predice que las tres ondas tendrían



idénticos potenciales de onda media (después de corregir el valor de i_r puesto que la reacción que tiene lugar en el electrodo es reversible).

El cociente K_u/K_{RH_u} es aproximadamente igual a $(D_R/D_{RH_u})^{1/2}$ el cual se puede determinar experimentalmente por el cociente de las corrientes de difusión catódica y anódica obtenidas con una disolución que contenga concentraciones iguales del oxidante y el reductor. Este cociente es usualmente tan próximo a uno que el segundo término de la ecuación es despreciable. Por lo tanto $E^{1/2}$ coincide prácticamente con el potencial que se mide por la técnica potenciométrica ordinaria en una disolución que contenga concentraciones iguales del oxidante y del reductor a un pH dado; y debe tenerse en cuenta que $E^{1/2}$ es una función lineal del pH y por tanto independiente de las concentraciones absolutas y de las relativas del oxidante y del reductor en el conjunto de la disolución.

Las concentraciones de iones hidrógeno en el electrodo en disoluciones no reguladas.—Vamos a considerar primero la onda anódica de hidroquinona en una disolución no regulada de nitrato potásico diluido. Durante la oxidación se forman iones hidrógeno:



KOLTHOFF y ORLEMANN (35) hacen la siguiente deducción para el cálculo de la concentración interfacial de iones hidrógeno y la relación entre $E^{1/2}$ y el pH interfacial: La velocidad media a la cual la hidroquinona llega a la superficie del electrodo viene dada (según ILKOVIC, MAC GILLAVRY y RIDEAL) por:

$$K \cdot D_{Hy}^{1/2} ([\overline{Hy}] - [Hy]^0)$$

donde K es una constante dependiente de las características del capilar, D_{Hy} es el coeficiente de difusión de la hidroquinona en la disolución, $[Hy]$ es la concentración de hidroquinona en la disolución y $[Hy]^0$ es la concentración media de hidroquinona en la superficie del electrodo; puesto que estas velocidades deben ser iguales, tendremos la ecuación:

$$i = K \cdot D_{Hy}^{1/2} ([Hy] - [Hy]^0) \quad (9)$$

Sabemos que la velocidad media a la que la quinona es suministrada al electrodo es proporcional a I y que la velocidad media a la que es separada de éste está dada por $K \cdot D_Q^{1/2} ([\overline{Q}] - [Q])$ en donde los símbolos tienen el mismo significado que en caso anterior de la hidroquinona. Teniendo la ecuación:

$$i = K \cdot D_Q^{1/2} ([Q^0] - [Q]) \quad (10)$$

De una forma similar obtendremos para los iones hidrógeno:

$$i = \frac{1}{2} K \cdot D_{H^+}^{1/2} ([\bar{H}^0] - [H^+]) \quad (11)$$

(El valor $\frac{1}{2}$ aparece a causa de la reacción).



La ecuación de ILKOVIC nos da la relación

$$i = K \cdot D_{Hy}^{1/2} [Hy] \quad (12)$$

De las ecuaciones anteriores se obtienen fácil y rápidamente las siguientes:

$$[\bar{Hy}]^0 = [Hy] \left(1 - \frac{i}{K \cdot D_{Hy}^{1/2} [Hy]} \right) = [Hy] \frac{i_a - i}{i} \quad (13)$$

$$[\bar{Q}]^0 = \frac{D_{Hy}^{1/2}}{D_Q^{1/2}} ([Hy] - [\bar{Hy}]^0) + [Q] \quad (14)$$

$$[H^+]^0 = \frac{D_{Hy}^{1/2}}{D_{H^+}^{1/2}} 2 ([Hy] - [\bar{Hy}]^0) + [H^+] \quad (15)$$

Para una disolución de hidroquinona no regulada los potenciales de onda media serán por lo tanto:

$$[\bar{Hy}]^0 = \frac{1}{2} [Hy] \quad (16)$$

$$[\bar{Q}]^0 = \frac{D_{Hy}^{1/2}}{D_Q^{1/2}} \left\{ \frac{1}{2} [Hy] \right\} \quad (17)$$

$$[H^+]^0 = \frac{D_{Hy}^{1/2}}{D_{H^+}^{1/2}} [Hy] \quad (18)$$

al referir el potencial del electrodo de gotas al electrodo de calomelanos saturado tendremos la siguiente ecuación:

$$p\bar{H}^0 = \frac{0,4532 - E_{1/2}}{0,0591} + \frac{1}{2} \log \frac{[\bar{Q}]^0}{[Hy]^0} \quad (19)$$

Al emplear la ecuación de ILKOVIC para la relación entre i_a y el coeficiente de difusión, KOLTHOFF y ORLEMANN calcularon de la medida de las corrientes de difusión a 25° C, que $D_{Hy} = (7,4 \pm 0,2) \cdot 10^{-6}$ cm²/seg, y $D_Q = (8,6 \pm 0,2) \cdot 10^{-6}$ cm²/seg. El coeficiente de difusión del ión hidrógeno es de $9,34 \cdot 10^{-5}$ cm²/seg a 25° C; y sustituyendo estos valores en la ecuación 19 se deduce la siguiente relación entre el pH medio, la inter-

fase del electrodo durante la vida de una gota y el potencial de onda media:

$$pH^{\circ} = -0.02 + \frac{0.4532 \times E_{1/2}}{0.0591} \quad (25^{\circ}) \quad (20)$$

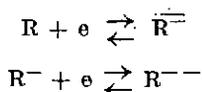
Encontrando también, a partir de los coeficientes de difusión conocidos, que la ecuación 18 la podemos escribir en la forma:

$$p\bar{H}^{\circ} = 0.56 - \log [Hy] \quad (21)$$

Reducción reversible con formación de semiquinonas.—En la reducción de un número relativamente grande de sustancias, MICHAELIS y colaboradores observaron la formación intermedia de una sustancia denominada semiquinona correspondiente a la adición de un electrón a la forma oxidada R.

Esto se verifica en las sustancias que contienen oxígeno o nitrógeno al final de un sistema de doble enlace. Con sustancias que contienen oxígeno la estabilidad de la semiquinona se favorece en medio alcalino y las sustancias que contienen nitrógeno en medio ácido.

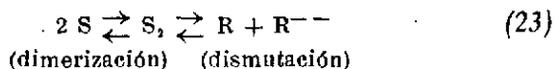
A un pH constante (en disolución regulada) los dos pasos de reducción puede representarse por las ecuaciones:



con la forma intermedia $R^{\cdot-}$ representamos la semiquinona, en lugar de designarla por S. La semiquinona está en equilibrio reversible con R y R^{2-} , el que se representa por la ecuación de dismutación:



La semiquinona tiene propiedades de un radical libre y puede dimerizarse en disolución



MICHAELIS y colaboradores (36) describen las ecuaciones derivadas del cambio de potencial de oxidación de R en la semi-reducción, o de $R^{\cdot-}$ sobre la semi-oxidación, por la adición de reactivos.

Estas son las ecuaciones de las curvas de valoración potenciométrica. La ecuación fundamental es una de las clásicas

$$E = E^{\circ} + \frac{RT}{2Fy} \cdot \ln \frac{[Ox]}{[Red]} \quad (24)$$

en la cual (Ox) es la concentración total de la forma oxidada (R), y (Red) la concentración total de la forma reducida.

MÜLLER (37) señala la forma fundamental en que el análisis de las curvas corriente-voltaje de la onda polarográfica u onda de R, permite el cálculo de los potenciales de oxidación del sistema y de los distintos equilibrios relacionados.

La forma rápida de determinación de un polarograma, es considerada por MÜLLER como una gran ventaja sobre el difícil método potenciométrico. De una u otra forma MÜLLER admite que el método potenciométrico es más exacto que el polarográfico, y recomienda el método polarográfico para los estudios iniciales.

En los estudios de la reducción polarográfica de la riboflavina, BRDICKA (38) ha interpretado sus polarogramas sobre la base de los trabajos clásicos de MICHAELIS, realizando este mismo autor un estudio completo de las curvas corriente-voltaje.

Las ecuaciones siguientes están referidas a la generalización de los trabajos de BRDICKA, suponiendo que los distintos equilibrios que se relacionan se establecen instantáneamente, y al no considerar la aparición de la onda de adsorción, manifiesta que se deben sólo tener en cuenta los siguientes equilibrios:

(K = constante de dismutación)

$$\frac{(Ox)(Red)}{(S^2)} = K \quad (25)$$

(K = constante de formación de semiquinona)

$$\frac{(S^2)}{(Ox)(Red)} = K \quad (26)$$

(γ = constante de formación del dímero)

$$\frac{(D)}{(S^2)} = \gamma \quad (27)$$

(q = constante de dimerización)

$$\frac{(D)}{(Ox)(Red)} = q \quad (28)$$

y en donde D simboliza al dímero. Se observa que $q = K\gamma$.

Efecto en las ondas de la adsorción de la forma reducida y oxidada.— En unos estudios de gran interés, BRDICKA ha interpretado las complicadas ondas polarográficas obtenidas en la reducción de los compuestos orgánicos en los cuales los productos de reducción son fuertemente adsorbi-

dos en la interfase mercurio-agua y por consiguiente en el electrodo de gotas de mercurio. En el estudio de la reducción de la riboflavina observa una preonda antes de la onda normal de reducción, existiendo fenómenos similares en la reducción del azul de metileno.

El polarograma consta de dos ondas, una preonda de altura constante que es independiente de la concentración, seguida por una onda normal de reducción. La corriente total de difusión (o sea la suma de la corriente de la preonda y de la corriente de la onda normal) es proporcional a la concentración de azul de metileno en la disolución. La segunda onda decrece al disminuir la concentración y a concentraciones muy pequeñas (del orden de $0,5 \cdot 10^{-4}$ M) únicamente se observa la preonda. Por otro lado, el potencial de oxidación de la onda normal corresponde aproximadamente, pero no exactamente al potencial de oxidación del sistema termodinámicamente reversible y cambia con el pH en la forma demostrada por CLAK (39) en sus clásicos trabajos sobre los potenciales de oxidación del azul de metileno.

La aparición de la preonda a potenciales más positivos que el correspondiente a la reducción termodinámicamente reversible es atribuido por BRDICKA a una adsorción de la forma reducida en el electrodo de gotas de mercurio; como resultado de esta adsorción la actividad de la forma reducida es considerablemente menor que cuando es una verdadera disolución. La diferencia entre los potenciales de onda media de la preonda y la onda normal corresponde a la energía de adsorción de la forma reducida, disminuyendo la diferencia entre los potenciales con la temperatura y a 90° C sólo aparece la onda normal, esto se explica por un decremento en la energía de adsorción con el aumento de temperatura.

Las curvas corriente-voltaje pueden ser interpretadas cuantitativamente cuando se considera la adsorción del leucocolorante. La isoterma de adsorción de Langmuir podemos escribirla de la siguiente forma:

$$\alpha = \frac{z \omega c}{1 + \omega c}$$

en la cual α es la cantidad adsorbida en moles/cm² de superficie, ω es el coeficiente de adsorción, z es el número máximo de moléculas adsorbidas por cm² y c la concentración molar del adsorbido en la disolución.

Derivando la ecuación de la onda polarográfica BRDICKA supone que el equilibrio de adsorción se alcanza instantáneamente; en realidad en la interpretación de las curvas experimentales debe ser aplicada una corrección para la velocidad de establecimiento del equilibrio.

El potencial de oxidación E de un sistema reversible puede escribirse:

$$\frac{(\text{Red})^{\circ}}{(\text{Ox})^{\circ}} = e^{-2F(E-E_0)/RT} \quad (29)$$

pudiendo poner en lugar de $(\text{Ox})^{\circ}$ la relación de ILKOVIC

$$[\text{Ox}]^{\circ} = \frac{i_d - i}{K} \quad \delta \quad \frac{i_d - i}{2g} \quad (30)$$

en la cual g es el factor de proporcionalidad entre la corriente de difusión total i_d y la concentración molar de la sustancia reducida.

Considerando i como una función de la concentración de reducido en la interfase $[\text{Red}^{\circ}]$, tanto la cantidad de $[\text{Red}]$ que se difunde fuera, como la cantidad que permanece unida al electrodo por adsorción deben ser tenidas en cuenta

$$i = 2g[\text{Red}^{\circ}] + 2Fy \frac{z \cdot \Delta q \cdot \omega [\text{Red}^{\circ}]}{1 + \omega [\text{Red}^{\circ}]} \quad (31)$$

en la que el incremento de q es la proporción de aumento de superficie del electrodo por segundo.

Cuando la superficie está completamente saturada, el segundo término de la ecuación 31 se transforma en $2Fy \cdot z \cdot \Delta q$; determinando este término la magnitud de la preonda i_d , si el valor $2g[\text{Red}^{\circ}]$ que es muy pequeño se desprecia, la corriente límite de la preonda se denomina corriente de adsorción i_a .

Combinando las ecuaciones 31, 30 y 29, se deduce que

$$E - E_0 = - \frac{RT}{2Fy} \ln \left[\frac{\omega(i - i_a) - 2g}{2\omega(i_d - i)} \pm \sqrt{\frac{[2g - \omega(i - i_a)]^2 + 8g\omega i}{2\omega(i_d - i)}} \right] \quad (32)$$

Dando valores a g , i_d , i_a y ω pueden ser calculadas las curvas corriente-voltaje.

Con ayuda de las ecuaciones 29 y 30 es posible calcular la corriente a la cual $[\text{Ox}^{\circ}]$ es igual a $[\text{Red}^{\circ}]$, y el potencial en este punto corresponde al potencial tipo E_0 del sistema termodinámicamente reversible.

Considerando que i_d represente la corriente total de difusión, e i_a la corriente de adsorción, $i_d = i + i_a$ e

$$i_{E_0} = \frac{i_d}{2} + i_a$$

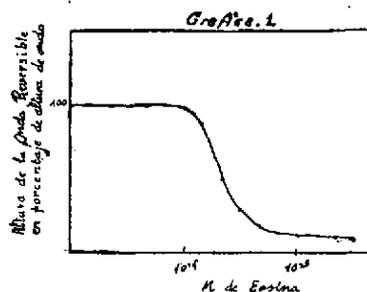
El verdadero potencial de oxidación no está situado en el potencial correspondiente al de onda media de la corriente total, sino en el del po-

tencial de onda media de la corriente de la segunda onda más un valor constante i_a . Tiene interés que mientras una corriente de difusión normal cambia con $m^{2/3} t^{1/6}$ (o en proporción a \sqrt{H}) la corriente de adsorción i_a es una función de $m^{2/3} t^{1/3}$, y por lo tanto i_a cambia proporcionalmente con la altura de mercurio H .

Hasta ahora hemos considerado la adsorción de la forma reducida en favor de la forma oxidada, pero en cambio si la forma oxidada es adsorbida más fuertemente que la reducida aparece en lugar de una preonda, una postonda, como por ejemplo cuando una onda aparentemente normal se observa seguida por una pequeña onda de adsorción. En este caso

$$i = i_a - 2g [Ox^o] - 2Fy \frac{z \cdot \Delta q \cdot \omega [Ox^o]}{1 + \omega [Ox^o]} \quad (33)$$

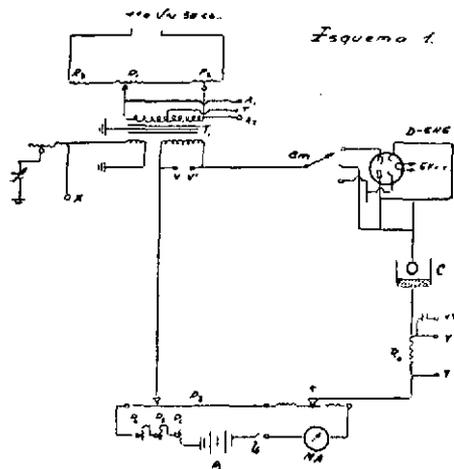
WIESNER (40) ha estudiado el efecto de la *eosina* disuelta y a veces el de la *eritrosina* en las ondas catódicas o anódicas. A concentraciones muy pequeñas de colorante no son afectadas las ondas reversibles, pero cuando la concentración de eosina alcanza un cierto valor, la altura de la onda reversible disminuye con el aumento de la concentración de eosina, cuando actúa sobre las ondas de reducción, la parte residual de la sustancia oxidada es reducida a potenciales más negativos, observándose una segunda onda. Aparentemente la capa adsorbida del colorante no interfiere la oxidación-reducción polarográfica normal, ya que cuando la concentración del colorante es muy pequeña el tiempo necesario para la formación de una capa de adsorción compacta es tan grande que prácticamente no interfiere; al aumentar la concentración del colorante, y también al disminuir el tiempo de goteo, la tendencia a ser adsorbida aumenta y, a una cierta concentración, la capa adsorbida se hace más compacta y es comparable a una cristalización bidimensional.



Si una sustancia presenta una preonda debida a la adsorción de su forma reducida, por ejemplo el azul de metileno, la riboflavina, etc. y un colorante capilarmente activo, es adsorbido más fuertemente que la sustancia reducida, el colorante puede reemplazar a la forma reducida de la superficie del mercurio, *desapareciendo en tales circunstancias la preonda.*

PARTE EXPERIMENTAL

Circuito fundamental.—Este corresponde al esquema 1.º donde *B* es la batería, *c* la célula polarográfica, *Cm* el conmutador, *Lv* el interruptor de batería, *R_a* la resistencia de 300 ohmios, *YY'* las tomas para la conexión de las placas verticales del oscilógrafo, *VV'* la conexión del voltímetro a válvula y *X* la conexión del barrido horizontal.



Consiste fundamentalmente en:

- a) El potenciómetro de continua que está alimentado por una batería que permite tomar potenciales de 0 a $-3V$.
- b) Un transformador de entrada que introduce en el circuito de la célula polarográfica una tensión regulable de alterna de poca amplitud.

c) Un sistema defasador de la tensión que se aplica a las placas horizontales del oscilógrafo, y que proviene del transformador de entrada.

d) Una resistencia de 300 ohmios que lleva la caída de tensión de la célula a las placas verticales del oscilógrafo.

e) Una válvula rectificadora con dos posiciones que permite suprimir uno u otro semiciclo del potencial de alterna introducido en el circuito.

El circuito está dispuesto para que mediante varios conmutadores, se puedan simultanear varias medidas y para el trazado de curvas corriente-voltaje intercalando un galvanómetro según el método original de HEYROVSKY.

Los elementos del circuito son:

Potenciómetro.—Es del tipo de puente con cursor manual montado sobre un soporte de madera y consta de un hilo de 1 metro de longitud y 0,32 mm de diámetro, de sección uniforme, con una resistencia total de 6,25 ohmios. La aleación de níquel-cobre que lo constituye carece de coeficiente de temperatura entre 0° y 300° C. Mediante unos reostatos, grueso y fino en cascada, se puede intercalar un miliamperímetro que permita el tarado del puente, siendo empleado por nosotros uno de la casa «Trüb-Täuber». Para hacer el tarado se ajustan los reostatos de manera que el consumo del circuito sea de 0,160 A; en estas condiciones, entre los extremos del puente habrá una caída de potencial de 1 V. Montadas en serie con el puente, hay otras dos resistencias iguales a él, perfectamente calibradas, de hilo grueso de doble arrollamiento, para evitar efectos inductivos. Con la clavija K en la posición 0, el cursor permite tomar cualquier potencial entre 0 y -1 V; en la posición 1, potenciales entre -1 y -2, y en la posición 3 potenciales entre -2 y -3 V.

El calibrado del puente se ha realizado frente a un «pH-meter Philips» que permite apreciar diferencias de potencial con un error de $\pm 0,5$ mV, se ha construido la escala correspondiente, se ha acoplado al soporte del puente y sobre ella se desliza un índice largo unido al cursor. El contacto de éste con el hilo se efectúa por una pieza de madera con núcleo de plomo unida al cursor.

Transformador de entrada.—Consta de un primario con sistema de control para la tensión de entrada de la red; un potenciómetro con dos reostatos en la entrada del estabilizador.

Una resistencia de 1.000 ohmios, que sirve para proteger los potenciómetros. El secundario es de pocas espiras y de gran sección. En conjunto este transformador actúa reduciendo la tensión, con lo que la tensión, o barrido, que se introduce en el circuito de la célula puede variar a voluntad y entre límites relativamente amplios, sin variar la resistencia

exterior del circuito de la célula. El calibrado de barrido para varias posiciones del ajuste grueso, se ha efectuado mediante un voltímetro a válvula conectado en VV' .

El primario de este transformador tiene las tomas, que permiten la conexión de un oscilador de baja frecuencia en circuito simétrico, con toma a masa. En estas condiciones, el calibrado grueso de barrido se hace con el amortiguador del oscilador, esta conexión nos permite trabajar con barridos de diferentes frecuencias y formas de onda.

Sistema defasador.—Lo constituye un montaje de resistencias variables en serie, P_r de 500.000 ohmios, y una batería de condensadores en paralelo C_v unida a tierra, que da origen a un adelanto en la corriente, la que se aplica a las placas horizontales del oscilógrafo. Este diseño es análogo al clásico de Kipping para lograr figuras elípticas.

El circuito así montado nos permite utilizar la misma tensión de barrido aplicada a las placas verticales del oscilógrafo. En régimen de trabajo, se ajustan los valores de las resistencias y condensadores de forma que se produzca un defasaje de 90° ; en este caso las figuras son elípticas y sus ejes dependen de la relación $R/(1/\omega C)$.

Si no se tratase de una capacidad dinámica y las reacciones fuesen totalmente reversibles, con un barrido senoidal puro no habría distorsión y la figura característica sería una elipse.

Oscilógrafo de rayos catódicos.—Hemos empleado el modelo G.M.-3156 Philips, el cual va provisto de un amplificador para la señal vertical, que le da una sensibilidad máxima de 1 mV por centímetro de pantalla.

En algunos de nuestros trabajos hemos prescindido del amplificador del oscilógrafo y se han utilizado dos amplificadores conectados directamente a las placas del mismo. Estos amplificadores son de corriente continua de alta ganancia, con estabilizador y bajo nivel de señales parásitas.

Válvula rectificadora.—Es un doble diodo 6H6, de emisión por caldeo indirecto. En nuestras medidas de precisión, el caldeo se realizó en corriente continua, para evitar corrientes parásitas.

Estabilizador.—Es de tipo magnético; ha sido diseñado especialmente con objeto de mejorar la forma de onda, suprimiendo armónicos y corregir así mismo el factor de potencia.

Como el estabilizador toma la corriente de un elevador reductor de tipo continua a la entrada de la red, se logra estabilizar el voltaje en un orden del 0,3 %, eliminando completamente causas de error en las medidas del circuito por variaciones en la tensión de la red.

Todos los estabilizadores de este tipo, a «núcleo saturado» introducen error en la forma de onda, por aportación de varios armónicos. Esto

carece de importancia en nuestro caso, ya que la determinación de los potenciales de onda media la realizamos por simetría de formas geométricas en la pantalla del oscilógrafo; la aparición de armónicos, introducidos por el estabilizador y modificados en parte por los transformadores con núcleo de hierro, no hace sino crear puntos singulares en nuestras curvas en la pantalla, que las más de las veces nos sirven para facilitar la busca de las figuras simétricas.

El conjunto de transformadores, válvula rectificadora, sistema defasador y resistencia en serie, va incluido en una caja de madera, quedando en el panel superior los mandos de los distintos potenciómetros, los conmutadores, las entradas y bornas para las conexiones de la célula, potenciómetro de continua, placas del oscilógrafo, voltímetro a válvula, etc. Los transformadores van blindados con pantallas electrostáticas bloqueando de este modo al circuito de señales externas (41).

Voltímetro a válvula.—Modelo GM-4131 Philips para trabajos con baja frecuencia; en una gama de 25 á 15.000 c. p. s. La resistencia de entrada en el rango de 10 mV, en que hemos realizado la mayor parte de las medidas, es de 120 Megohm, por lo tanto, es despreciable el consumo del aparato durante la medida. Su estabilización da errores menores del 1 % para variaciones en la tensión de entrada del 5 %.

Polarógrafo.—Se ha empleado un polarógrafo *Radiometer* de registro directo.

Las características fundamentales de este aparato son:

1.º Que utiliza un circuito amplificador electrónico de gran estabilidad.

2.º Que la corriente polarográfica se registra como caída de tensión en una resistencia en serie con el circuito de la célula y las diferencias de potencial así obtenidas son transformadas en tensiones pulsantes por un vibrador.

3.º Un control de ganancia del propio amplificador de tensión permite variar a voluntad la sensibilidad del polarógrafo.

4.º Uno de los circuitos del propio vibrador permite modificar la corriente inicial y a su vez un circuito de varios condensadores se utiliza para la compensación de la corriente de carga.

5.º En el circuito de carga de la válvula final hay intercalado un rectificador «doble onda» que acciona el galvanómetro registrador.

Calibrado del polarógrafo.—Por interesar tener en cualquier instante un contraste del orden de magnitud de las corrientes registradas, se ha hecho el calibrado del polarógrafo «*Radiometer*».

Este aparato incluye un circuito de calibración patrón, mediante el cual, puede determinarse para cada posición del mando de «amplifica-

ción de sensibilidad» la relación entre la deflexión inscrita (medida en milímetros de banda) y la corriente real que la motiva, por la relación:

$$i = K. \text{ deflexión aguja. sensibilidad}$$

La constante K ha de hallarse experimentalmente para cada posición del amplificador de sensibilidad, de acuerdo con la relación:

$$K = \frac{\text{corriente de calibrado}}{\text{deflexión de calibrado}}$$

Nosotros hemos tomado para la calibración una corriente de 2.10^{-8} amperios. Los valores de las deflexiones registradas y los calculados para K en las seis posiciones del mando amplificador de sensibilidad se dan en la Tabla III.

TABLA III

Deflexión de calibrado en mm	Mando amplificador de Sensibilidad	Valor de la Constante K
70	100	$2,86.10^{-10}$
58	90	$3,45.10^{-10}$
50	80	$4,00.10^{-10}$
44	70	$4,54.10^{-10}$
38,5	60	$5,20.10^{-10}$
35.	50	$5,71.10^{-10}$

Si se tiene en cuenta la Tabla III, los valores de K representan amperios por mm de deflexión cuando la posición del multiplicador de corriente o sensibilidad está en 1. En las condiciones extremas de trabajo, o sea el amplificador de sensibilidad en la posición 100, pueden registrarse corrientes con el Radiometer de $2,86.10^{-10}$ A. por mm de banda. Comprobándose también que la posición de mando en 50, reduce exactamente a la mitad la sensibilidad con respecto a la que tiene en la posición 100 de acuerdo con las instrucciones del aparato.

Célula polarográfica.—Se ha utilizado un modelo sencillo, de tipo tubo de ensayo ancho y corto (3×5 cm), con el cierre de tapón de goma provisto de los agujeros necesarios para el capilar, electrodo de referencia, borboteo de hidrógeno y de salida del mismo, con cierre hidráulico exterior al objeto de trabajar en atmósfera de hidrógeno.

El electrodo de referencia utilizado es el de *calomelanos saturado*,

con puente de CLK saturado, taponado en los extremos con papel de filtro.

El depósito de mercurio es un embudo de llave, cilíndrico de 150 cc de capacidad. La conexión se realiza mediante alambre de platino en tubo de vidrio con mercurio que se inserta en el tapón que cierra el depósito. El depósito está enlazado con la rama lateral de un tubo en T (acostada) por un tubo de goma de poco diámetro interior y pared gruesa para que los codos no rompan la vena de mercurio. Los enlaces y el tubo de goma han sido previamente desulfurados por tratamientos con lejías de SO_3Na_2 y de NaOH en caliente. La rama superior de la pieza del enlace comunica con un tubo abierto de poco diámetro acoplado a una regleta y la inferior enlaza con el capilar. La altura H del nivel de mercurio en el depósito con respecto al orificio de salida, se determinó para el calibrado del capilar con un catetómetro.

El capilar empleado tiene una longitud de 73 mm, y un diámetro interior de 109,5 micras.

Medidor de pH.—Se ha empleado un «pH-meter» Philips de lectura directa con electrodo de vidrio, provisto de mando para la corrección de temperatura y con un tornillo para ajustar la asimetría de potencial. Este aparato es de gran sensibilidad y exactitud, permitiendo apreciar 0,01 de pH, con error máximo de $\pm 0,01$.

Generador de hidrógeno.—La corriente de hidrógeno se ha obtenido con un aparato Kipp a partir de zinc de buena calidad y ácido sulfúrico diluido. La corriente de gas se lava primero con disolución de NaOH para retener el ácido que pudiera ser arrastrado y luego se hace pasar por otro lavador con la misma disolución empleada en la célula, al objeto de saturar al gas con vapor de agua a la misma presión y evitar errores en las concentraciones de los líquidos polarográficos debidos al arrastre o aumento de agua en la célula al paso del hidrógeno.

Registro fotográfico.—Todas las fotografías se han realizado con una cámara «Cossor-1428», provista de motor 1429, diseñada especialmente para acoplarse a los estudios con oscilógrafo. La película utilizada, ha sido *Gevaert Gevaplan 30*.

Productos.—*Mercurio*—El mercurio empleado para el electrodo de gotas, se ha sometido a un cuidadoso proceso de purificación. Primeramente se ha oxidado electrolíticamente de acuerdo con la técnica de FER YANCHICH (43), en un montaje que difiere bastante del empleado por este autor. El montaje empleado consta de una columna de vidrio, abierta por ambos extremos, de 3 cm de diámetro y 55 cm de altura en posición vertical; su extremo inferior se introduce, sin llegar al fondo, en un vaso de precipitados de forma alta de 3,7 cm de diámetro y 7 cm de altura. El vaso se llena hasta la mitad con mercurio totalmente purificado, en la co-

lumna se vierte ácido nítrico de concentración 1/20 hasta unos 3 cm del borde superior.

Sobre esta columna hay un embudo grande con el mercurio a purificar que lo deja fluir por un pequeño capilar introducido en el ácido. El mercurio cae en forma de lluvia y se recoge en el fondo del vaso. Entre ambos depósitos de mercurio, se aplica una diferencia de potencial de 3 V actuando el lecho de mercurio del vaso como ánodo. El mercurio que cae experimenta una purificación química favorecida por la gran superficie que presenta a la acción del ácido nítrico, y luego, al llegar al fondo sufre una oxidación electrolítica.

De esta forma cualquier impureza metálica queda en disolución. Al acumularse mercurio en el vaso, se desborda y es conducido por un embudo de pared estriada, en el que se apoya todo el sistema, al frasco de almacenamiento.

Después de esta purificación, el mercurio se somete a dos destilaciones a un vacío de 15 mm en un aparato que nos fué construído en tres piezas de vidrio Pyrex, según diseño inspirado en MATHEWS y WILLIAMS (42).

Productos para las disoluciones reguladoras.—Todos los productos empleados tales como ClH, glicocola, ácido cítrico, fosfato, bórax, sosa cáustica y cloruro potásico, son de la casa E. Merck de la calidad p. a.

Vitaminas.—Las vitaminas empleadas, clorhidrato de tiamina, riboflavina, nicotinamida y ácido nicotínico son de la casa E. Merck de la calidad p. a.; habiendo también efectuado algunas comparaciones con los mismos productos de tipo farmacéutico, de la pureza exigida por la farmacopea española.

CRITERIOS Y TÉCNICAS GENERALES SEGUIDOS EN EL TRABAJO

Criterio de reversibilidad e irreversibilidad.—Los nuevos criterios seguidos sobre el grado de reversibilidad de procesos electródicos, cuando se opera con potenciales ondulados y semiondulados (44), es de que cuando las figuras oscilográficas presentan para un determinado potencial, una forma elíptica con alargamientos máximos y simétricos en ambas mitades superior e inferior, y en el entorno de dicho potencial las figuras muestran deformaciones equivalentes a potenciales equidistantes de aquél, puede afirmarse que el equilibrio electródico se establece reversiblemente, verificándose con igual velocidad los dos procesos del equilibrio. En tales casos, las curvas $I \sim = f(V)$ o curvas de campana, obtenidas al actuar la ondulación completa o cada uno de los semiciclos aisladamente, tienen un trazado simétrico, coincidiendo las alturas de las correspondientes a los semiciclos, las cuales se cortan (igual valor de $I \sim$) en el potencial de máxima simetría. Las desviaciones pequeñas, sean de simetría de forma en los oscilogramas o de las alturas en las curvas de campana con semiciclos, corresponden a alteraciones en la reversibilidad, por diferir en velocidad los procesos anódico y catódico.

Si las deformaciones sólo afectan a una mitad de la figura, aun en el potencial de máximo alargamiento, y las curvas de campana presentan desniveles marcados, careciendo además de simetría, el equilibrio electródico es irreversible, siendo debido el paso de corriente casi de modo exclusivo a uno solo de los procesos, el catódico, si realizamos una reducción o el anódico si se trata de una oxidación. En uno u otro caso, los potenciales de máxima corriente, difieren en varios centenares de mV de acuerdo con las sobretensiones que intervienen.

Podemos resumir lo anterior, diciendo que al aplicar la técnica que describimos en el circuito fundamental, fijamos como criterio de reversi-

bilidad, según que empleemos el barrido lineal, las figuras con base armónica de tiempo o el voltímetro a válvulas:

1.º—Que en $E \frac{1}{2}$ las figuras de barrido sean simétricas en ambos semiciclos y que las figuras a potenciales equidistantes se equivalgan simétricamente.

2.º—Que en $E \frac{1}{2}$ la figura con base armónica de tiempo sea simétrica (elipse típica sin deformaciones profundas) y que las figuras a potenciales equidistantes de $E \frac{1}{2}$ sean también equivalentes simétricamente.

3.º—Que en las curvas obtenidas con el voltímetro a válvula, actuando las semiondas, la curva correspondiente a la semionda anódica tenga igual altura que la curva correspondiente a la semionda catódica (con error de ± 1 mm, en su representación).

Criterio de diferenciación de las ondas de difusión, de las de adsorción.—En las ondas de difusión normales, la intensidad (en las curvas corriente-voltaje) es función de la raíz cuadrada de la altura de Hg (45), por lo tanto si representamos por hi , la altura de onda y por H la altura de mercurio, tendremos:

$$hi = K \cdot \sqrt{H_{\text{corr}}} \quad (34)$$

y aplicando logaritmos, la ecuación anterior se nos transforma en:

$$\log hi = \log K + \frac{1}{2} \log H \text{ corr} \quad (35)$$

y por tanto si nosotros variamos las alturas de Hg en una misma disolución de la substancia a estudiar y a los polarogramas obtenidos les medimos la altura de onda (en mm), y las alturas de Hg, expresadas en las mismas unidades y llevamos los valores de las segundas a las abscisas y los correspondientes a hi a las ordenadas, en un papel log-log, obtendremos una recta, cuyo coeficiente angular será $\frac{1}{2}$ si la onda es de difusión o si es un papel milimetrado, llevando los valores de los $\log H \text{ corr}$. a las abscisas y los de $\log hi$ a las ordenadas, también obtendremos una recta cuyo coeficiente angular (que denominamos $\text{tg} \alpha$) será igual a $\frac{1}{2} = 0,5$, si la onda corresponde a una corriente de difusión.

En cambio en las ondas de adsorción, la intensidad (en las curvas corriente-voltaje) es directamente proporcional a la altura de mercurio y por lo tanto su expresión será una ecuación lineal de la forma:

$$hi = K \cdot H_{\text{corr}} + n \quad (36)$$

Nosotros hemos variado las alturas de Hg en una misma disolución y medimos las alturas de onda hi ; expresando en mm ambas alturas y

llevando sobre papel milimetrado, las primeras al eje de abcisas y las segundas al de ordenadas, nos debe de resultar una recta al ser la onda de adsorción.

Luego en primer lugar, vemos si es una onda de difusión y al no serlo, comprobamos si lo es de adsorción.

Criterio cuantitativo.—Para determinar el rango en que las concentraciones de sustancias son proporcionales a las alturas de onda, manteniendo constantes todas las condiciones de trabajo, trazamos los polarogramas de disoluciones con distinta concentración de la vitamina en estudio, midiendo después las alturas de onda de los polarogramas obtenidos. Llevando en papel milimetrado, los valores de las concentraciones al eje de abcisas y las alturas de onda al de ordenadas, resultará una línea recta en el intervalo en que exista dicha proporcionalidad y en el cual será aplicable la determinación cuantitativa, puesto que la proporcionalidad de las alturas de onda con las concentraciones, se expresa por:

$$h_i = K C + n \quad (37)$$

siendo h_i la altura de onda, C la concentración, K la pendiente de la recta y n su ordenada en el origen.

Criterio de reconocimiento de ondas de adsorción.—Hemos seguido el criterio de la adición de Eosina a la disolución hasta lograr, primero la disminución de la preonda y luego su desaparición (46); la desaparición de la preonda o postonda, nos confirma que son de adsorción. Hemos comprobado también la dependencia de la altura de la onda de reducción, con la concentración de Eosina, según la gráfica 1.

La comprobación de las preondas y postondas de adsorción, es de interés, por ser su aparición clásica en los procesos «orgánicos reversibles» (47), demostrando su existencia que la onda de reducción a la que acompañan, se debe a un proceso reversible, si bien no todos los procesos reversibles van acompañados de este tipo de ondas.

Parte descriptiva.—Iniciamos el estudio efectuando una comprobación de ondas polarográficas de disoluciones en concentración 10^{-3} M en ClK 0,1 N como electrolito fondo de clorhidrato de tiamina, riboflavina, nicotinamida y ácido nicotínico de acuerdo con los trabajos de LINGANE y DAVIS (1), realizando una localización previa de ondas.

Continuamos comprobando los polarogramas de la disolución fondo de ClK 0,1 N regulada con los sistemas reguladores: glicocola-ClH, glicocola-NaOH, borato-ClH, borato-NaOH, biftalato-ClH, biftalato-NaOH, acético y acético-NaOH, cítrico-fosfato y disolución reguladora de Veibel; así como también trazamos los polarogramas del electrolito fondo ClK 0,1 N sin regular.

Estas comprobaciones de los polarogramas del electrolito fondo sólo y con los diferentes sistemas reguladores las hacemos con el objeto de observar cuáles de ellos presentan menos interferencias dentro del rango de voltaje en el que vamos a trabajar de 0,0 a $-2,0$ V.

De este estudio preliminar sacamos en consecuencia que el electrolito fondo ClK 0,1 N no presenta ninguna interferencia en el rango indicado de tensiones. Hallando como sistemas reguladores más adecuados, los siguientes:

- a) El sistema biftalato-ClH en valores de pH de 1,81 a 3,22, en el intervalo de 0,0 a $-1,15$ V, en cuyo punto aparece la onda de hidrógeno.
- b) El sistema biftalato-NaOH en valores de pH de 3,87 a 6,68, siendo su polarograma una recta horizontal desde 0,0 hasta $-1,8$ V.
- c) El sistema borato-ClH en valores de pH de 7,6 a 9,2 desde 0,0 a $-2,0$ V, y
- d) El sistema borato-NaOH en valores de pH hasta 11,0 en el rango de tensiones de 0,0 a $-2,0$ V.

A la vista de lo comprobado decidimos emplear en nuestro estudio los sistemas reguladores biftalato-NaOH en valores de pH desde 3,8 hasta 7,0 y de este valor en adelante los sistemas borato-ClH y borato-NaOH; así como también decidimos realizar un estudio comparativo de las vitaminas objeto de este trabajo a diferentes valores de pH, regulados con los citados sistemas reguladores, y con las mismas vitaminas disueltas en ClK 0,1 sin regular como electrolito fondo.

Tiamina.—Trabajamos siempre con disoluciones de clorhidrato de tiamina 10^{-3} M en ClK 0,1 N como electrolito fondo.

Al efectuar la observación polarográfica con clorhidrato de tiamina de tipo farmacéutico comercial, disuelto en ClK 0,1 N sin regular a un pH de 4,40, aparece un polarograma con tres ondas consecutivas, la primera (de mayor altura) de $-1,2$ a $-1,42$ V con $E_{1/2} = -1,3$ V; la segunda de $-1,49$ a $-1,61$ V con $E_{1/2} = -1,55$ V; y la tercera de $-1,66$ a $-1,78$ V con $E_{1/2} = -1,72$ V. Estas tres ondas quedan reducidas a las dos primeras al pasar por la disolución en la célula durante 10 minutos corriente de H_2 , apareciendo ahora, la primera a $-1,18$ V y terminando a $-1,4$ V con $E_{1/2} = -1,41$ V; y la segunda de $-1,50$ a $-1,58$ V con $E_{1/2} = -1,56$ V; al pasar borboteando aire por la célula, vuelven a aparecer las tres ondas con análogas características que al principio, lo que nos demuestra que la tercera onda era debida al oxígeno (pudiendo comprobarse en los polarogramas T-1, 23 y 24). Al emplear a la misma concentración y en el mismo electrolito fondo a pH 5,62 un clorhidrato de tiamina puro R. A. de la casa Merck, obtenemos ondas como la que se pone de manifiesto en el polarograma 1, o sea, que se obtiene una sola onda

de $-1,15$ a $-1,45$ V con $E_{1/2} = -1,29$ V, lo que nos hace presumir que la segunda onda era debida a impurezas del clorhidrato de tiamina de uso farmacéutico. [Polarograma T-1, 1].

En disolución regulada con biftalato-NaOH en ClK 0,1 N a pH=3,78 la onda de tiamina se superpone con la de hidrógeno, sin que pueda apreciarse separación entre ambas, iniciándose la onda de tiamina e hidrógeno a $-1,2$ V y terminando en un máximo en $-1,44$ V, teniendo que trabajar en sensibilidades muy bajas (1/500) en el polarógrafo, debido a la gran altura de la onda, siendo el valor de $E_{1/2}$ de la onda conjunta $-1,33$ V [Polarograma T-1, 2].

Al trabajar con la misma concentración de tiamina en el mismo electrolito fondo en disolución regulada con biftalato NaOH, a pH=4,80, disminuye la altura de la onda conjunta aproximadamente 1/3, debido a la disminución de altura de la onda a causa de la concentración de iones hidrógeno, la onda tiene el mismo principio y final que antes, pero el valor de $E_{1/2}$ es $-1,36$ V, o sea, que se ha desplazado a potenciales más negativos. [Polarogramas T-1, 3 y 4].

Cuando regulamos el clorhidrato de tiamina con biftalato-NaOH, a un pH de 5,73 (manteniendo constantes todas las demás condiciones), desaparece casi toda la onda de hidrógeno y sus efectos, apareciendo con claridad la onda debida a la tiamina a $-1,15$ V y terminando a $-1,45$ V desapareciendo prácticamente el máximo y presentando el valor de $E_{1/2}$ igual a $-1,33$ V, disminuyendo la altura de onda a un 0,4 respecto a la que tenía la onda conjunta con el hidrógeno a un pH de 3,78. [Polarograma T-2, 5].

Al trabajarse a pH=6,15 regulando con biftalato-NaOH se observa la total desaparición de la onda de hidrógeno, con completa desaparición del máximo de salida y disminución de la altura de onda a un 25 % de la que tenía a pH 5,73, se mantienen constantes la entrada y salida de onda y se desplaza el potencial de onda media hacia la zona positiva, $E_{1/2} = -1,32$. [Polarogramas T-2, 6 y 7].

A pH 7,24 regulando con borato-ClH, la curva de tiamina se alarga en su salida, no siendo claramente apreciable su terminación de onda más que trabajando con pequeñas sensibilidades (1/700), iniciándose aquella a $-1,35$ V y terminando a $-1,46$ V, se observa un piqueñísimo aumento de pendiente en el polarograma de la disolución fondo a potenciales más positivos, de 0,0 a $-0,9$ V. [Polarogramas T-3, 8 y T-2, 9].

A pH 7,85, regulando con borato-ClH, se observa la aparición de una nueva onda, que se inicia en $-0,4$ V, pero esta onda no presenta una terminación definida; manteniendo la onda normal iguales características que a pH 7,24. [Polarograma T-3, 10].

A valores de pH de 8,12, la onda anódica que se inició, a un pH de 7,86, en el rango de 0,0 a $-1,0$ V se aprecia ya perfectamente definida con entrada (a sensibilidad 1/100) a $-0,33$ V y salida a $-0,62$ V, con valor de $E_{1/2}$ de $-0,48$ V; en cambio la onda que en rangos ácidos estaba apareciendo (a la que denominaremos onda catódica) le desaparece totalmente su salida, siendo imposible definirla. [Polarogramas T-3, 11 y T-2, 12].

A pH 8,42 regulando con borato-NaOH, la onda anódica adquiere mayor pendiente y altura, para las mismas sensibilidades que a pH 8,12; iniciándose a $-0,35$ V y terminando a $-0,63$ V con $E_{1/2} = -0,47$ V. La onda catódica todavía sigue sin presentar una salida definida. [Polarogramas T-3, 13 y T-2, 14].

A un pH de 8,80 regulado con borato-NaOH, la onda anódica adquiere un aumento de pendiente iniciándose a $-0,30$ V y terminando a $-0,65$ V con $E_{1/2} = -0,45$ V; apreciándose ya en la catódica su terminación con un ligero máximo, se inicia a $-1,65$ V y termina a $-1,9$ V con valor de $E_{1/2} = -1,80$ V. [Polarogramas T-3, 15 y T-2, 16].

Finalmente, a pH 9,52 regulado con borato-NaOH, la onda anódica tiene su máxima pendiente, con un principio a $-0,30$ V y un final a $-0,6$ V, teniendo un valor de $E_{1/2}$ de $-0,440$ V; la onda catódica ya presenta una terminación definida a $-1,6$ V, empezando a $-1,43$ V con $E_{1/2}$ igual a $-1,53$ V. [Polarogramas T-3, 17 y T-2, 18].

La variación de los potenciales de onda media con el pH, en disoluciones reguladas del clorhidrato de tiamina están resumidas en la Tabla IV.

A pH 9,52 en la onda anódica observamos un ligero achatamiento en su salida, lo que nos hace emplear un papel más rugoso en el polarógrafo, utilizando a este objeto papel milimetrado previamente perforado al paso de los dientes del artefacto de marcha del polarógrafo; se comprueba que este achatamiento se debe a una pequeña onda de salida que acompaña a la onda anódica de la tiamina, lo que nos demuestra que era debido a esta pequeña onda, que no aparecía por efecto de la inercia de la aguja inscriptora en su subida, la que eliminamos al emplear un papel más rugoso que la compensa. [Polarograma T-4, 20].

A continuación pasamos a efectuar un estudio de las ondas que han aparecido, comprobando cuáles de ellas son ondas de difusión y cuáles son de adsorción, en los dos casos en que hemos obtenido ondas mejor definidas, o sea, en disoluciones de clorhidrato de tiamina en ClK 0,1 N sin regular y en ClK 0,1 N regulado con borato-NaOH a un pH de 9,50.

Para ello preparamos disoluciones 10^{-3} M de clorhidrato de tiamina en ambos medios y hacemos polarogramas a distintas alturas de mercurio.

rio (320, 370, 470 y 520 mm, alturas que mantendremos constantes en el estudio de las demás vitaminas). En las Tablas V, VI y VII se reúnen los valores de alturas de onda correspondientes a determinadas alturas de mercurio, así como los logaritmos de dichos valores. La Tabla V corresponde a disoluciones en ClK 0,1 N sin regular, la Tabla VI contiene los resultados correspondientes al estudio de la onda anódica en ClK 0,1 N regulada con borato-NaOH a pH 9,40, y en la Tabla VII tenemos los valores obtenidos para la 2.^a onda en las mismas condiciones que en el anterior. [Polarogramas T-4, 19, 20 y 22].

De acuerdo con las ecuaciones 34 y 35, si al llevar los valores de los logaritmos de las alturas de mercurio H , a las abscisas de un papel milimetrado y los correspondientes logaritmos de las alturas de onda hi a las ordenadas, obtenemos una línea recta con un coeficiente angular igual a $\frac{1}{2}$ (0,5), la onda es de difusión. Cuando no se cumple esta condición, pero al llevar de acuerdo con la ecuación 36, los valores de la altura de mercurio H a las abscisas y los valores correspondientes de la altura de las ondas hi a las ordenadas de un papel milimetrado, obtenemos una línea recta, cualquiera que sea su coeficiente angular, la onda es de adsorción.

Esta demostración gráfica de las ecuaciones 34 y 35 las efectuamos para la disolución 10^{-3} M de clorhidrato de tiamina en ClK 0,1 N sin regular en la Gráfica 2, comprobando que es una onda de difusión.

La misma comprobación hemos efectuado para la disolución de idéntica concentración de la onda anódica a pH 9,40, regulada con borato-NaOH, en la Gráfica 3; obteniendo la conclusión de que se trata de una onda de difusión. Y por último al hacer esta demostración de las ecuaciones 34, 35 y 36; con la onda catódica obtenida a pH 9,40, en ClK 0,1 N regulado con borato-NaOH, en la Gráfica 4, obtenemos que esta onda es de adsorción.

Pasamos a comprobar si las ondas terminales de las ondas catódica y anódica de la tiamina a pH 9,40, son de adsorción de la forma oxidada en la superficie de la gota o no lo son, dato de interés puesto que su existencia ya casi nos demuestra que la onda a la que acompañan obedece a una reacción polarográfica reversible (en sustancias orgánicas), para lo cual adicionamos Eosina y si la postonda es de adsorción de la forma oxidada, dicha postonda disminuye en altura, llegando a desaparecer al aumentar la concentración de Eosina, debido a que ésta es adsorbida antes en la gota y evita la adsorción de la forma oxidada de la reacción. Hacemos esta comprobación resultando, como puede observarse de la comparación de los polarogramas T-4, 20 y 21, que la pequeña onda de salida de la onda anódica de la tiamina a pH 9,40 es una postonda de adsorción de la forma oxidada, debido a que disminuye con Eosina y desa-

parece al concentrar más el contenido de ésta, lo que casi nos indica que la onda anódica es debida a una reacción polarográficamente reversible; en cambio la onda final de la onda catódica no lo es.

Tratamos ahora de determinar el límite inferior cuantitativo del clorhidrato de tiamina (o sea el límite inferior en el que la concentración es proporcional a la altura de onda) en la onda anódica obtenida a pH=9,40 en ClK 0,1 N regulado con borato-NaOH, y en la onda catódica obtenida en ClK 0,1 N sin regular; para ello trazamos los polarogramas manteniendo constantes todas las condiciones, de disoluciones de diferente concentración, midiendo las correspondientes alturas de onda y llevando, de acuerdo con la ecuación 37, las molaridades de las disoluciones a las abscisas de un papel milimetrado y las alturas de onda h_i , a las ordenadas del mismo, comprobando el punto correspondiente a la menor concentración que se halla en línea recta. Los valores de concentraciones a pH 9,40 regulada con borato-NaOH están expresados en la Tabla VIII, y su representación en la Gráfica 5, observándose que el límite cuantitativo en estas condiciones es $2 \cdot 10^{-4}$ M de clorhidrato de tiamina.

Los valores correspondientes a disoluciones en ClK 0,1 N sin regular están expresados en la Tabla VIII-A, y su representación en la Gráfica 6, hallando que el límite cuantitativo en estas condiciones es de $3 \cdot 10^{-4}$ M de clorhidrato de tiamina. Los valores expresados en ambas Tablas corresponden a los polarogramas T-5, 25 y 27.

Finalmente hallamos el límite de apreciación de la onda polarográfica del clorhidrato de tiamina en ClK 0,1 N sin regular, encontrando que es el de $2 \cdot 10^{-4}$ M, como puede comprobarse en el polarograma T-5, 26.

La aparición de la postonda de adsorción de forma oxidada en la onda anódica del clorhidrato de tiamina a pH 9,40 regulada con borato-NaOH en ClK 0,1 N, nos hace sentir la necesidad de la aplicación de los criterios de reversibilidad oscilopolarográfica ya reseñados (44), al estudio de la tiamina en las condiciones en que se obtienen ondas polarográficas mejor definidas: a pH 9,40 en ClK 0,1 N reguladas con borato-NaOH y en ClK 0,1 N sin regular.

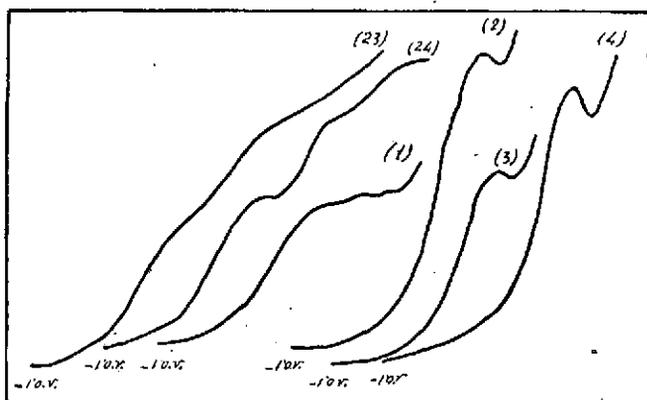
Del estudio y comparación (a pH 9,40 en ClK 0,1 N regulada con borato-NaOH) de las figuras oscilográficas en el potencial de máxima simetría $E_{1/2} = -0,500$ V (fotografías 1, 2 y 3), la 1 con figura completa, la 2 en la semionda anódica y la 3 en la semionda catódica, así como de las figuras de barrido (fotografías 6, 7 y 8) de figura completa, figura superior y figura inferior respectivamente, deducimos por su simetría que se cumple este criterio de reversibilidad. Las fotografías 4-9 y 5-10 a potenciales equidistantes del de máxima simetría, no son simétricas entre sí, luego este criterio de reversibilidad no se cumple, a pesar de resultar válido

cuando se trata de iones. Al trazar la curva de campana con el voltímetro a válvula obtenemos los valores de la Tabla IX, cuya representación hacemos en la Gráfica 7, comprobamos que las curvas anódica y catódica no tienen la misma altura, pero se aproximan, por lo que están cercanas a la reversibilidad, y se observa la detección a la salida de la curva de dos pequeñas ondas, que tanto en la figura completa (una) como en la anódica y catódica, tienen la misma altura, ondas que se deben seguramente a la postonda de adsorción de la forma oxidada en la superficie de la gota, dejando este punto para comprobarlo en la riboflavina por ser considerada como una reacción orgánica reversible típica.

Todo esto nos lleva a la conclusión de que la reducción polarográfica correspondiente a la onda anódica de la tiamina en pH 9,40, regulada con borato-NaOH en ClK 0,1 N, es polarográficamente casi reversible.

Efectuamos idéntico trabajo con una disolución 10^{-3} M de clorhidrato de tiamina en ClK 0,1 N sin regular a pH 4,00, no encontrando simetría en las fotografías comprendidas del 11 al 20 (ambos inclusive), lo que nos indica que no se cumple ninguno de los criterios de reversibilidad que empleamos. En la curva de campana del voltímetro a válvula se encuentran los valores que se expresan en la Tabla X, efectuando su representación en la Gráfica 8; observándose que mientras la semionda anódica tiene una sola onda, la semionda catódica tiene dos, lo que a pesar de tener la misma altura, nos dice que no se cumple este criterio de reversibilidad. De aquí se deduce que la onda catódica de tiamina en ClK 0,1 N sin regular no es polarográficamente una reacción reversible, por lo que puede calificarse de irreversible.

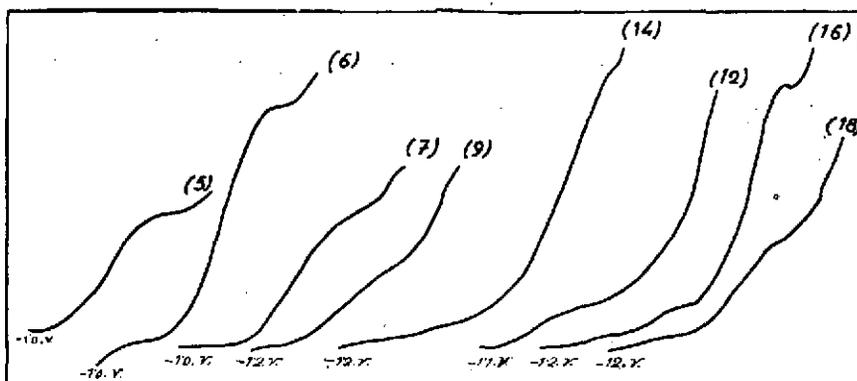
Polarogramas T-1



Tiamina. Onda catódica

- 23.—Disolución $2 \cdot 10^{-3}$ M en ClK 0,1 N sin regular. Sensibilidad 1/300. Después de pasar corriente de H_2 durante 10 minutos.
- 24.—Idem., ídem. después de pasar aire con objeto de comprobar el efecto del oxígeno.
- 1.—Disolución 10^{-3} M en ClK 0,1 N sin regular a pH 5,62. Sensibilidad 1/500.
- 2.—Idem. regulada con biftalato-sosa a pH 3,78. Sensibilidad 1/500.
- 3.—Idem., ídem. a pH 4,80. Sensibilidad 1/1500.
- 4.—Idem., ídem., ídem. Sensibilidad 1/1000.

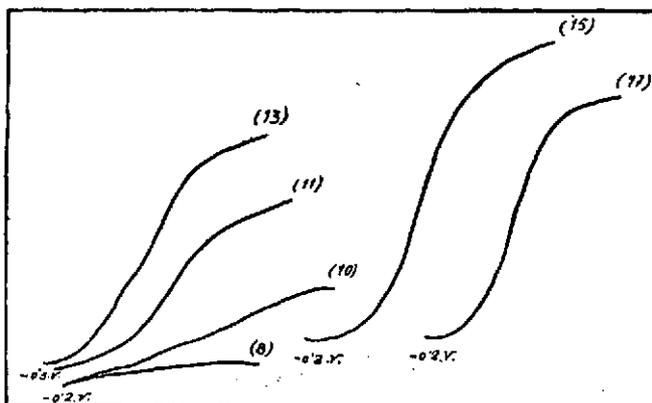
Polarogramas T-2



Tiamina. Onda catódica

- 5.—Disolución 10^{-3} M regulada con biftalato-sosa en ClK 0,1 N a pH 5,73. Sensibilidad 1/1000.
- 6.—Idem., ídem. a pH 6,15. Sensibilidad 1/500.
- 7.—Idem., ídem., ídem. Sensibilidad 1/700.
- 9.—Idem. regulada con borato-clorhídrico a pH 7,24. Sensibilidad 1/700.
- 12.—Idem., ídem. a pH 8,12. Sensibilidad 1/1000.
- 14.—Idem. regulada con borato-sosa a pH 8,42. Sensibilidad 1/200.
- 16.—Idem., ídem. a pH 8,80. Sensibilidad 1/300.
- 18.—Idem., ídem. a pH 9,52. Sensibilidad 1/70.

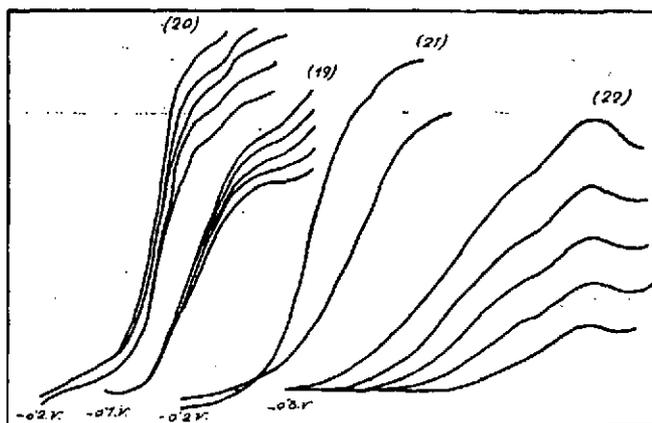
Polarogramas 7-3



Tiamina. Onda anódica

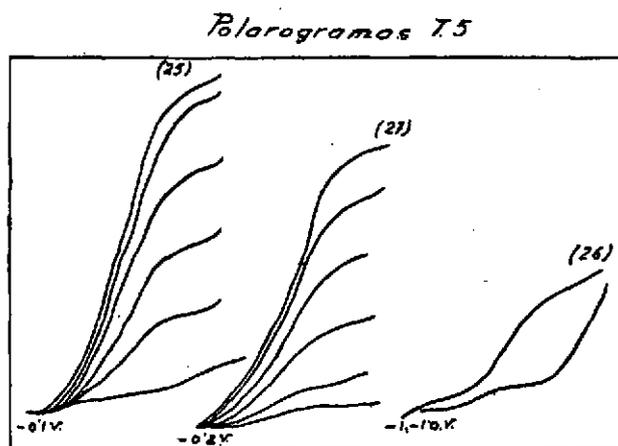
- 8.—Disolución 10^{-3} M regulada con borato-ClH en ClK 0,1 N a pH 7,24. Sensibilidad 1/200.
- 10.—Idem., ídem. a pH 7,86. Sensibilidad 1/100.
- 11.—Idem., ídem. a pH 8,12. Sensibilidad 1/100.
- 13.—Idem. regulada con borato-sosa a pH 8,42. Sensibilidad 1/200.
- 15.—Idem., ídem. a pH 8,80. Sensibilidad 1/500.
- 17.—Idem., ídem. a pH 9,52. Sensibilidad 1/200.

Polarogramas 7-4



Tiamina

- 19.—Análisis de la onda catódica en ClK 0,1 N sin regular a pH 4,00. Sensibilidad 1/500.
- 20.—Comprobación de la postonda correspondiente a la onda anódica de la tiamina. Análisis de la onda anódica en ClK 0,1 N regulado con borato-sosa a pH 9,40. Sensibilidad 1/150.
- 21.—Comprobación de la onda de adsorción de la onda anódica de la tiamina y anulación de la misma por adición de eosina.
- 22.—Análisis de la onda catódica en ClK 0,1 N regulado con borato-sosa a pH 9,40. Sensibilidad 1/150.



Tiamina. Limite cuantitativo

25 y 26.—Onda catódica en ClK 0,1 N sin regular a pH 6,36.

27.—Onda anódica en ClK 0,1 N regulado con borato-sosa a pH 9,52.

TABLA IV

CLORHIDRATO DE TIAMINA

En disolución 10^{-3} M con ClK 0,1 N como electrolito fondo

pH	Disolución reguladora	Onda Anódica E 1/2	Onda Catódica E 1/2
3,78	Bifalato	No aparece	- 1,33
4,80	»	» »	-1,36
5,73	»	» »	-1,33
6,15	»	» »	-1,32
7,24	»	Se inicia el aumento de pendiente	-1,46 M. S.
7,86	»	Se ve la onda en su principio, pero no en su final.	-1,43 M. S.
8,12	»	-0,480	- M. S.
8,42	»	-0,470	- M. S.
8,80	»	-0,450	-1,80 Max
9,52	»	-0,440	-1,53 Max.

M. S. significa mala salida o final de onda..

— representa que no se ha podido hallar el valor de E 1/2 por no poder apreciar la terminación de la onda.

Max. quiere decir que la onda presenta un máximo.

TABLA V

Onda catódica de una disolución 10^{-3} M de clorhidrato de tiamina en ClK 0,1 N como electrolito fondo. pH = 4,00

H	log H	hi	log hi
320	2,505	53	1,724
370	2,568	56,5	1,748
420	2,623	59,5	1,771
470	2,672	62	1,792
520	2,716	64,5	1,806

Donde H es la altura de mercurio en mm y hi la altura de la onda en mm.



TABLA VI

Onda anódica de una disolución 10^{-3} M de clorhidrato de tiamina con disolución reguladora borato-NaOH a $\text{pH}=9,40$, y ClK 0,1 N de electrolito fondo

H	$\log H$	hi	$\log hi$
320	2,505	58	1,763
370	2,568	63	1,799
420	2,623	69	1,838
470	2,672	73	1,863
520	2,716	77	1,886

Siendo H la altura de mercurio en mm y hi la altura de la onda en mm.

TABLA VII

Onda catódica de una disolución de clorhidrato de tiamina en disolución reguladora borato-NaOH a $\text{pH}=9,40$, con ClK 0,1 N de electrolito fondo

H	$\log H$	hi	$\log hi$
<i>Onda inicial</i>			
320	2,505	6	0,778
370	2,568	18,5	1,267
420	2,623	29	1,462
470	2,672	40	1,602
520	2,716	53,5	1,728
<i>Onda final</i>			
320	2,505	7,5	0,875
370	2,568	8	0,903
420	2,623	9	0,954
470	2,672	10	1,000
520	2,716	12	1,079

En donde H es la altura de mercurio en mm, hi la altura de onda en mm.

TABLA VIII

Onda anódica

Clorhidrato de tiamina en disolución reguladora borato-NaOH
a pH=9,52, sobre ClK 0,1 N como electrolito fondo

Condiciones de trabajo

Amortiguación=8; Compensación=0; Sensibilidad=1/150

Amplificación de sensibilidad=100; Voltaje inicial= -0,15 V

<u>Concentraciones</u>	<u>hi en mm</u>
10^{-3} M	62
$8 \cdot 10^{-4}$ M	55,5
$6 \cdot 10^{-4}$ M	38
$4 \cdot 10^{-4}$ M	22
$2 \cdot 10^{-4}$ M	7
10^{-4} M	No puede medirse

TABLA VIII - A

Onda catódica

Disolución de clorhidrato de tiamina en ClK 0,1 como
electrolito fondo. pH= 4,42

Condiciones de trabajo

Amortiguación=8; Compensación=0; Sensibilidad=1/300

Amplificación de sensibilidad=100; Voltaje inicial= -1,0

<u>Concentraciones</u>	<u>hi en mm</u>
10^{-3} M	81
$9 \cdot 10^{-4}$ M	75
$7 \cdot 10^{-4}$ M	58
$5 \cdot 10^{-4}$ M	38
$3 \cdot 10^{-4}$ M	20
10^{-4} M	No puede medirse

TABLA IX

Disolución 10^{-3} M de clorhidrato de tiamina, en disolución reguladora borato-NaOH, con ClK 0,1 N de electrolito fondo

pH=9,40; Altura de mercurio=320 mm; Tiempo de goteo=1,7 sg.

ONDA COMPLETA		SEMIONDA ANÓDICA		SEMIONDA CATÓDICA	
Potenc.	Volt.	Potenc.	Volt.	Potenc.	Volt.
-0,150	87	-0,150	45	-1,150	40
175	83	175	42	175	37
200	79	200	40	200	34
225	73	225	39	225	29
250	67	250	38	250	24,5
275	59	275	36,5	275	21,5
300	53	300	33,5	300	20
325	48,5	325	29	325	20,5
350	47	350	25	350	23
375	48	375	22	375	26
400	51	400	20,5	400	29
425	57	425	21,5	425	31,5
450	62	450	23,5	450	33
				465	33,5
475	65,5	475	26,5	475	33
500	67	500	30	500	32
525	66,5	525	31,5	525	31,5
550	66	550	32	550	30
575	64	575	31,5	575	29
600	62,5	600	30,5	600	28,5
625	60,5	625	30	625	28,5
650	60,5	650	29,8	650	31,5
675	61	675	29	675	30,5
700	57,5	700	28	700	26
725	57	725	30		
750	55	750	29		
775	54	775	27		
800	51	800	25		

Mando de barrido de alterna en 30 mV de amplitud.
Corriente alterna de la red a 100 V y 50 c. p. s.

TABLA X

Disolución 10^{-3} M de clorhidrato de tiamina, en disolución de ClK 0,1 N como electrolito fondo

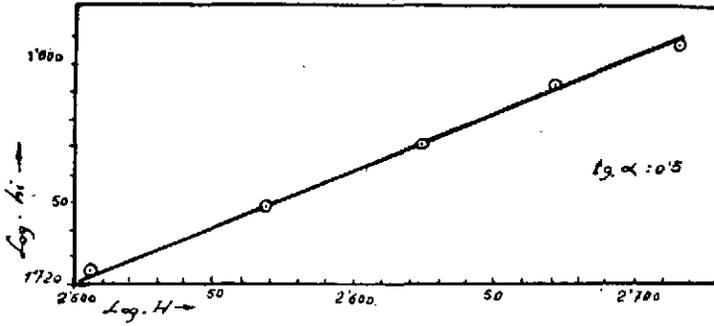
pH=4,00; Altura de mercurio=270 mm; Tiempo de goteo=2 sg.

ONDA COMPLETA		SEMIONDA ANÓDICA		SEMIONDA CATÓDICA	
Potenc.	Volt.	Potenc.	Volt.	Potenc.	Volt.
— 1,100	25	— 1,100	14	— 1,100	13,5
125	25	125	14	125	15
150	26,5	150	14	150	16,5
175	27	175	14	175	17,2
200	27,5	200	14	200	19
225	29,5	225	14,5	225	20
250	30,5	250	15,5	250	21
275	31,5	275	16	275	21,5
300	32	300	16,5	300	22
325	32,5	325	17	325	21
350	32,5	350	17,5	350	19,5
375	32	375	18	375	18,5
400	32	400	17,5	400	19
425	33,5	425	17	425	20
450	34,5	450	16,5	450	21
475	36,5	475	17	475	22
500	37,5	500	18	500	22,5
525	38,5	525	19	525	22,5
550	39,5	550	20	550	21
575	39	575	21	575	19
600	37	600	22	600	17
625	35	625	21,5	625	16
650	32,5	650	20	650	15,5
675	31,5	675	19	675	15,5
700	30	700	17,5	700	15,5
725	29	725	16		
750	28,5	750	15,5	750	15,5
775	28,5	775	15		
800	28,5	800	15	800	16

Mando de barrido de alterna en 30 mV de amplitud.

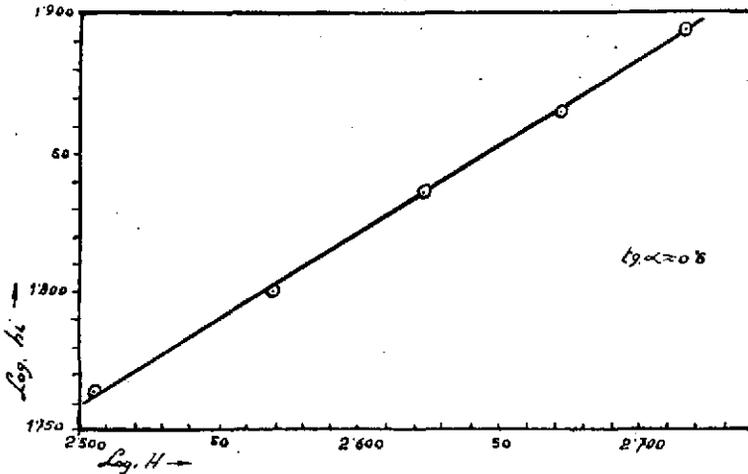
Corriente de alterna de la red a 100 V y 50 c. p. s.

Grafica 2

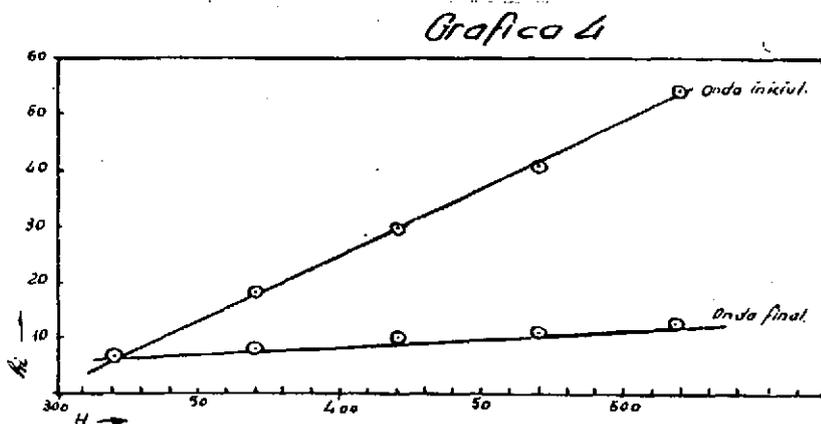


Análisis de la onda catódica de la tiamina en ClK 0,1 N

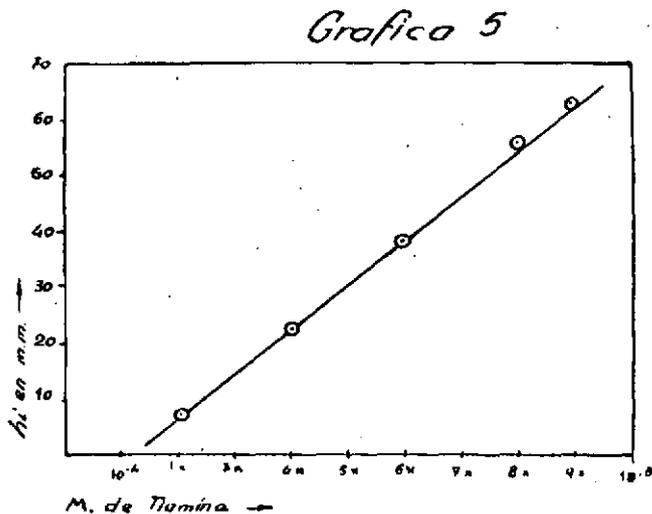
Grafica 3



Análisis de la onda anódica de la tiamina en ClK 0,1 N, regulado con borato-sosa a pH 9,40

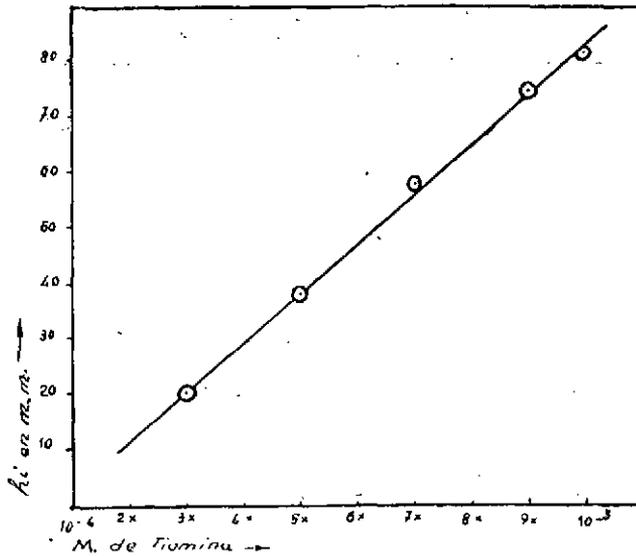


Análisis de las ondas inicial y final de la onda anódica de la tiamina en ClK 0,1 N, regulando con borato-sosa a pH 9,40



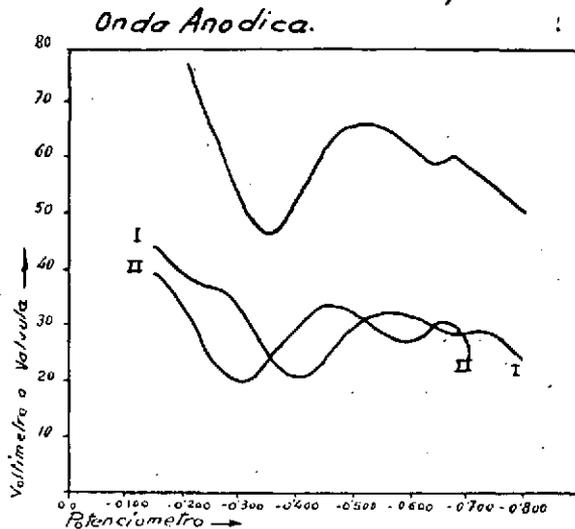
Límite cuantitativo de la onda anódica de la tiamina en ClK 0,1 N, regulado con borato-sosa a pH 9,52

Grafica 6.

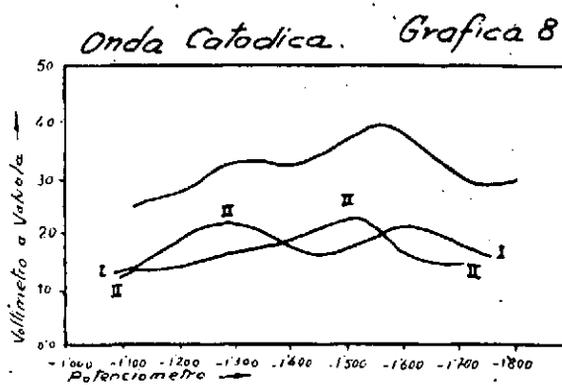


Límite cuantitativo de la onda catódica de la tiamina en ClK 0,1 N
sin regular a pH 4,42

Grafica 7.



Curva de campana correspondiente a la onda anódica de la tiamina
en ClK 0,1 N regulado con borato-sosa a pH 9,40



Curva de campana correspondiente a la onda catódica de la tiamina en ClK 0,1 N sin regular a pH 9,40

Tiamina, disolución 10^{-3} M en ClK 0,1 N regulada con borato-sosa
a pH=9,40 - Onda anódica

Fotog. 1



-0,500 V

Fotog. 2



-0,500 V

Fotog. 3



-0,500 V

Fotog. 4



-0,400 V

Fotog. 5



-0,600 V

Fotog. 6



-0,500 V

Fotog. 7



-0,500 V

Fotog. 8



-0,500 V

Fotog. 9



- 0,400 V

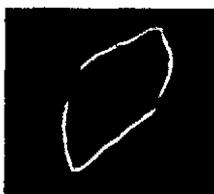
Fotog. 10



-0,600 V

Tiamina, disolución 10^{-3} M en ClK 0,1 N sin regular
a pH 4,00. - Onda catódica

Fotog. 11



-1,425 V

Fotog. 12



-1,425 V

Fotog. 13



-1,425 V

Fotog. 14



-1,225 V

Fotog. 15



-1,625 V

Fotog. 16



-1,425 V

Fotog. 17



-1,425 V

Fotog. 18



-1,425 V

Fotog. 19



-1,225 V

Fotog. 20



-1,625 V

Riboflavina.—Trabajamos con disoluciones $2 \cdot 10^{-4}$ M por ser esta concentración el punto de saturación de la disolución de la riboflavina en ClK 0,1 N sin regular.

Al efectuar el estudio polarográfico observamos que si no eliminamos oxígeno de la disolución en la célula, la onda del oxígeno enmascara totalmente la de riboflavina, apareciendo una onda de gran altura con un máximo, debida al oxígeno, la cual va desapareciendo a medida que pasamos hidrógeno hasta anularse, y quedá sólo la onda de riboflavina a los 15 minutos de pasar corriente de H_2 . Esto nos demuestra la necesidad de trabajar polarográficamente la riboflavina en célula que permita pasar corriente de H_2 durante el tiempo indicado y seguir trabajando en atmósfera del mismo gas. [Polarograma 28].

Eliminando el oxígeno y recorriendo una amplio rango de tensiones, la riboflavina presenta una onda polarográfica en ClK 0,1 N, que va desde $-0,34$ V a $-0,64$ V. [Polarograma 29].

Observando esta onda en una disolución $2 \cdot 10^{-4}$ M de riboflavina en ClK 0,1 N sin regular a pH 6,35 [en los polarogramas 30 y 31] (en el primero sin compensación y en el segundo con compensación 1) se ve que sin compensación la onda se inicia a $-0,35$ V y termina a $-0,66$ V con $E_{1/2} = -0,52$ V. Con compensación 1, la onda se inicia y termina igualmente a $-0,35$ V y $-0,66$ V con $E_{1/2} = -0,52$ V.

Al trabajar en disolución $2 \cdot 10^{-4}$ M de riboflavina en ClK 0,1 N regulada con biftalato-NaOH a pH 3,78, se observa la iniciación de la onda a $-0,20$ V terminando a $-0,46$ V con $E_{1/2} = -0,32$ V. [Polarogramas 32 y 33].

A pH 4,80 la disolución de riboflavina en ClK 0,1 N regulada con biftalato-NaOH, presenta una iniciación de onda a $-0,25$ V terminando a $-0,48$ V con $E_{1/2} = -0,36$ V. [Polarogramas 34 y 35].

A pH 5,90 la riboflavina regulada con biftalato-NaOH en ClK 0,1 N presenta la iniciación de onda a $-0,34$ V y termina a $-0,55$ V con $E_{1/2} = -0,44$. [Polarograma 36].

Al aumentar el pH a un valor de 6,73, regulando con biftalato-NaOH, la onda se inicia a $-0,375$ V y termina a $-0,68$ V con $E_{1/2} = -0,52$ V. [Polarograma 37].

En 7,18 de pH regulada con borato-ClH, la onda se inicia a $-0,35$ V finalizando a $-0,65$ con $E_{1/2} = -0,50$ V y sufre un desplazamiento a potenciales más positivos respecto al que tenía al pH de 6,73. Se observa que $E_{1/2}$ tiende a desplazarse a potenciales más positivos cuya tendencia seguirá al continuar aumentando el valor del pH del medio. [Polarograma 38].

A un pH de 7,77 la disolución de riboflavina regulada con borato-

ClH presenta la iniciación de la onda a $-0,43$ V terminando a $-0,70$ V con $E_{1/2} = -0,53$. [Polarograma 39].

A un pH de 8,70 regulando con borato-NaOH la onda empieza a $-0,45$ V terminando a $-0,71$ V con $E_{1/2} = -0,57$ V. [Polarograma 40].

A 9,70 de pH regulando con borato-NaOH, la onda de riboflavina se inicia a $-0,53$ V terminando a $-0,73$ V con $E_{1/2} = -0,60$ V. [Polarograma 41].

Por último a pH 10,54 regulando con borato-NaOH, la onda se inicia a $-0,53$ V terminando a $-0,77$ V con $E_{1/2} = -0,64$ V. [Polarograma 42].

La variación de los potenciales de onda media con los distintos valores de pH, en disoluciones de riboflavina en ClK 0,1 N reguladas con los sistemas expresados, están resumidos en la Tabla XI.

Hemos realizado a continuación un estudio de la onda polarográfica de la riboflavina, para comprobar la naturaleza de la misma, o sea, si es onda de difusión u onda de adsorción; realizando este estudio en disolución en ClK 0,1 N sin regular y en la misma disolución regulada con borato-NaOH a pH 10,52, por ser en donde hemos logrado obtener una onda mejor definida.

Para ello preparamos disoluciones $2 \cdot 10^{-4}$ M de riboflavina en ambos medios y hacemos polarogramas a 320, 370, 420, 470 y 520 mm de altura de mercurio. En las Tablas XII y XIII se reúnen los valores de las alturas de onda correspondientes a las expresadas alturas de mercurio, así como los logaritmos de dichos valores. La Tabla XII contiene los resultados correspondientes a la onda de la disolución en ClK 0,1 N sin regular a pH 6,00, y la Tabla XIII contiene los resultados de la onda de la disolución en ClK 0,1 N a pH 10,52 regulada con borato-NaOH. [Polarogramas 43 y 44].

Aplicamos las ecuaciones 34 y 35 para la onda de una disolución de riboflavina en ClK 0,1 N sin regular a pH 6,00, en la gráfica 9; y para una disolución de riboflavina en ClK 0,1 N regulada con borato-NaOH a pH 10,52, en la gráfica 10. Obteniendo en ambos casos que la onda de la riboflavina es de difusión.

Pasamos a comprobar si la preonda que precede a la onda de la riboflavina es una preonda de adsorción en la gota de la forma reducida. Para ello adicionamos Eosina obteniendo la desaparición de la preonda de la onda de la riboflavina, con un desplazamiento de la onda hacia potenciales más negativos, puesto que antes de adicionar Eosina la onda tenía su entrada a $-0,35$ V, y su salida a $-0,65$ V con $E_{1/2} = -0,52$ V, y después de la adición la onda se inicia a $-0,4$ V terminando a $-0,67$ con $E_{1/2} = -0,54$ V, desapareciendo la preonda, lo que nos demuestra

que se trata en efecto de una onda de adsorción en la gota de la forma reducida, y nos indica que la onda de riboflavina a la que precede se debe probablemente a un proceso polarográficamente reversible. [Polarogramas 45, 46, 47 y 48].

Determinamos el límite de apreciación de la onda de riboflavina, hallando y fijando éste en la concentración de 10^{-5} M trabajando con sensibilidad 1/20 y compensando (compensación 2) al objeto de separar la preonda de adsorción de la onda de difusión y teniendo en estas condiciones la preonda una altura aproximada del 50 % respecto a la altura de la onda de difusión. [Polarograma 49].

Tratamos ahora de determinar el límite inferior cuantitativo de la riboflavina (o sea el límite inferior en el que la concentración es proporcional a la altura de onda) en ClK 0,1 N sin regular, y en ClK 0,1 N regulado con borato-NaOH a pH 10,54, que han sido las condiciones en que hemos encontrado la onda mejor definida; para ello trazamos los polarogramas manteniendo constantes todas las condiciones a excepción de las concentraciones de riboflavina, medimos las correspondientes alturas de onda de los polarogramas y llevamos de acuerdo con la ecuación 37, las molaridades de las disoluciones a las abscisas de un papel milimetrado y las alturas de onda *hi* a las ordenadas del mismo, comprobando el punto correspondiente a la menor concentración de riboflavina que se halla en línea recta.

Los valores obtenidos de la disolución en ClK 0,1 N sin regular, procedentes del polarograma 50, están expresados en la Tabla XIV, y su representación en Gráfica 11, observándose que en estas condiciones el límite cuantitativo es $4 \cdot 10^{-5}$ M.

Los valores correspondientes a la disolución en ClK 0,1 N regulada con borato-NaOH a pH 10,54 (procedentes de los polarogramas 51 y 52) están expresados en las Tablas XV y XV-A y su representación en las Gráficas 12 y 12-A, hallando como límite inferior cuantitativo a sensibilidad 1/50 el de $1,6 \cdot 10^{-5}$ M y trabajando a la sensibilidad máxima 1/10 el de 10^{-6} M.

Vamos a aplicar ahora los criterios oscilopolarográficos de reversibilidad (44), al estudio de la onda de difusión de la riboflavina, en las condiciones en que esta onda la hemos obtenido mejor definida, o sea, en ClK 0,1 N sin regular, y en ClK 0,1 N regulado con borato-NaOH a pH 10,52.

Estudiamos primero la reversibilidad de la riboflavina en ClK 0,1 N sin regular a pH 6,00. Del estudio comparativo de las figuras oscilográficas en potencial de máxima simetría $E_{1/2} = -0,525$ V (fotografías 21, 22 y 23) la 21 con figura completa, la 22 en la semionda anódica y la 23

en la catódica, así como las figuras de barrido (fotografías 26, 27 y 28) de figura completa, de figura superior y de figura inferior respectivamente, deducimos por su simetría que no es perfectamente reversible, por no ser perfectamente simétricas las expresadas figuras. No presentando tampoco simetría las figuras de las fotografías 24 y 25 a potenciales equidistantes del de máxima simetría, así como tampoco las de barrido a estos mismos potenciales (fotografía 29 y 30).

Al trazar la curva de campana con el voltímetro a válvula obtenemos los valores reseñados en la Tabla XVI, cuya representación hacemos en la Gráfica 13, comprobándose que la semionda catódica y la semionda anódica no son perfectamente simétricas, y que existe entre sus alturas una diferencia de 4 a 5 mm, cuya diferencia está fuera del límite de error que marcamos al reseñar este criterio de reversibilidad, por lo que podemos afirmar que la reducción de la riboflavina en estas condiciones no es perfectamente reversible, a pesar de considerarlo así la literatura.

Realizamos idéntica comprobación con la riboflavina en ClK 0,1 N regulada con borato-NaOH a pH 10,52; observando de la comparación y estudio de las fotografías 31, 32 y 33 obtenidas en el potencial de máxima simetría $E_{1/2} = -0,575$ V, lo que también sucede a este mismo potencial de máxima simetría con las figuras de barrido (fotografías 36, 37 y 38) tanto en las figuras completas como en las correspondientes a las semiondas anódica y catódica, y es que son perfectamente simétricas, cumpliendo por lo tanto de una forma perfecta estos criterios de reversibilidad.

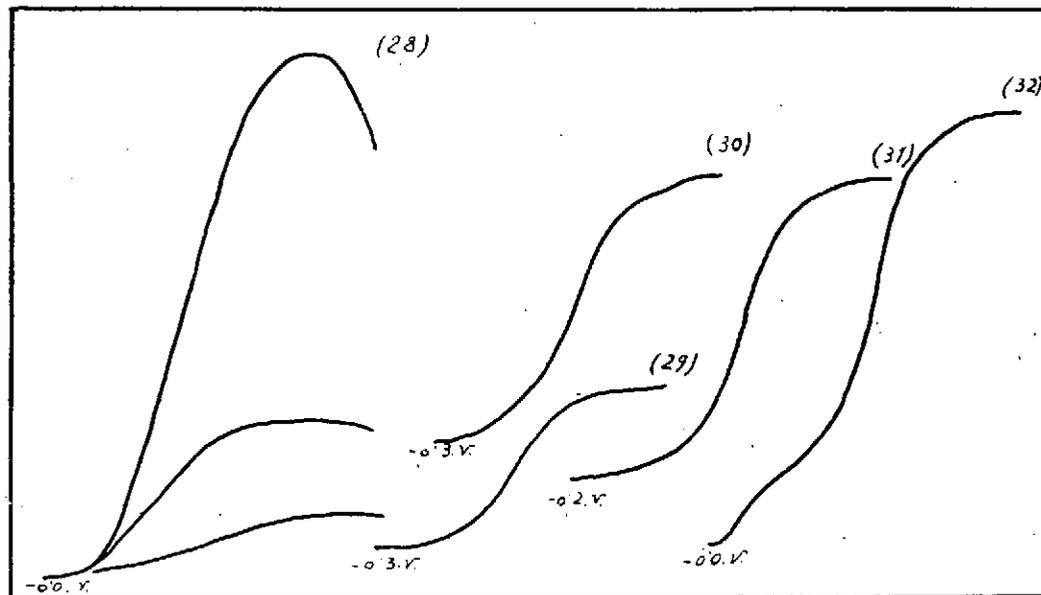
A potenciales equidistantes del de simetría (fotografías 34 y 35) las figuras son simétricas. En las figuras de barrido a potenciales equidistantes existe simetría. Fotog. 39 y 40.

Al trazar la curva de campana con el voltímetro a válvula obtenemos los valores que reseñamos en la Tabla XVII y cuya representación realizamos en la Gráfica 14, comprobando que obedece a una reacción mucho más rápida que en el caso precedente, y que las curvas anódica y catódica son perfectamente simétricas por lo cual se cumple también este criterio de reversibilidad; de todo lo expuesto sacamos en conclusión que en estas condiciones la onda de difusión de la riboflavina obedece a una reacción polarográfica perfectamente reversible.

La observación, en condiciones de perfecta reversibilidad en la curva completa del voltímetro a válvula, así como en las semiondas anódica y catódica, de una preonda cuya altura se mantiene constante en las tres curvas, nos hace suponer que posiblemente éstas representen a la preonda de adsorción de la forma reducida en la gota. Para comprobar si esto es así volvemos a obtener en las mismas condiciones los valores para una

curva del voltímetro a válvula, cuyos valores están expresados en la Tabla XVIII y se representan en la Gráfica 15; volviendo a observar las indicadas preondas. En la misma disolución de la célula añadimos Eosina hasta lograr una concentración $6,66 \cdot 10^{-4}$ M y volvemos a hallar los valores para trazar la curva de campana, los cuales agrupamos en la Tabla XIX y representamos en la Gráfica 16; observando, que además de la disminución de altura de la curva de campana que corresponde a la que teóricamente tenía que verificarse de acuerdo con la Gráfica 1, han desaparecido totalmente las preondas en las tres curvas lo que nos demuestra que efectivamente eran debidas a la preonda de adsorción en la superficie de la gota de la forma reducida en el electrodo. Constituyendo el trazado de las curvas de campana con el voltímetro a válvula un método rápido y seguro para la detección y determinación de las ondas de adsorción.

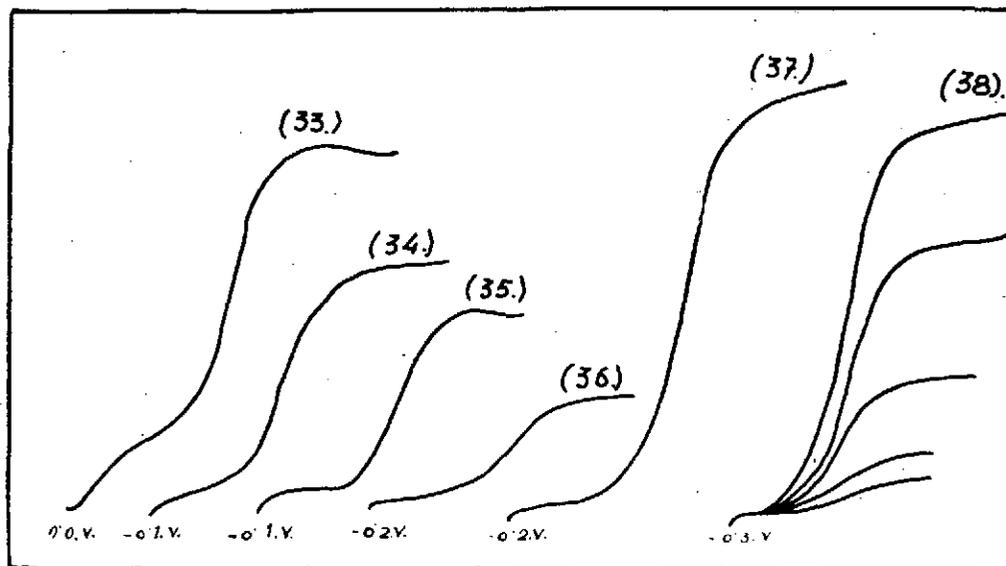
Polarogramas del 28 al 32



Riboflavina

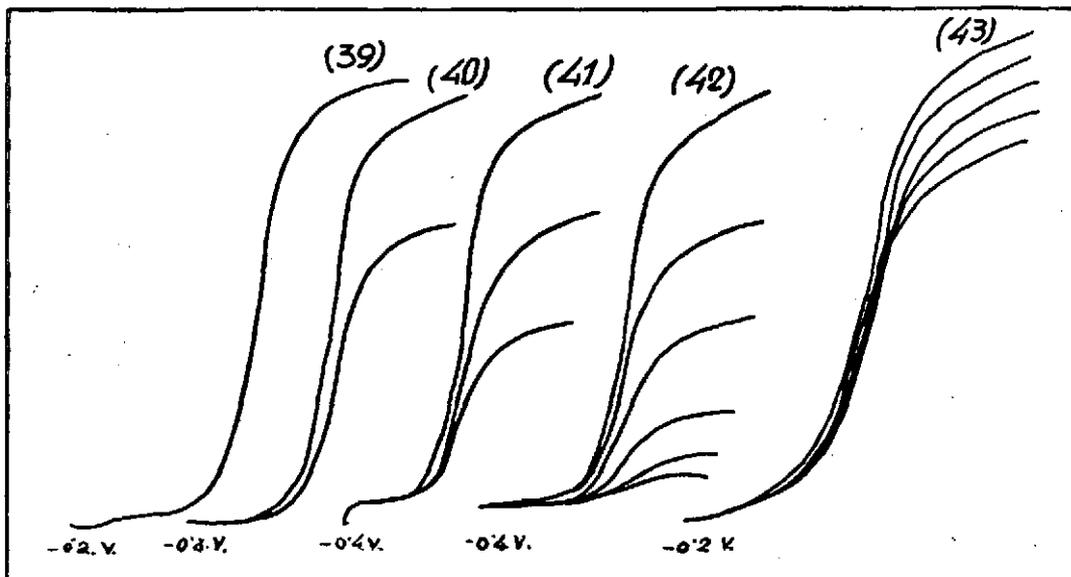
- 28.—Disolución $3 \cdot 10^{-5}$ M en ClK 0,1 N sin paso de hidrógeno y después de pasar el mismo durante 10 y 15 minutos, con objeto de observar la desaparición de la onda de oxígeno. Sensibilidad 1/100.
- 29.—Disolución saturada en ClK 0,1 N después de pasar H_2 durante 15 minutos. Sensibilidad 1/100.
- 30.—Idem., ídem. con sensibilidad 1/50.
- 31.—Disolución $2 \cdot 10^{-4}$ M en ClK 0,1 N sin regular a pH 6,35. Sensibilidad 1/50.
- 32.—Idem. regulada con biftalato-sosa a pH 3,78. Sensibilidad 1/100.

Polarogramas del 33 al 38

*Riboflavina*

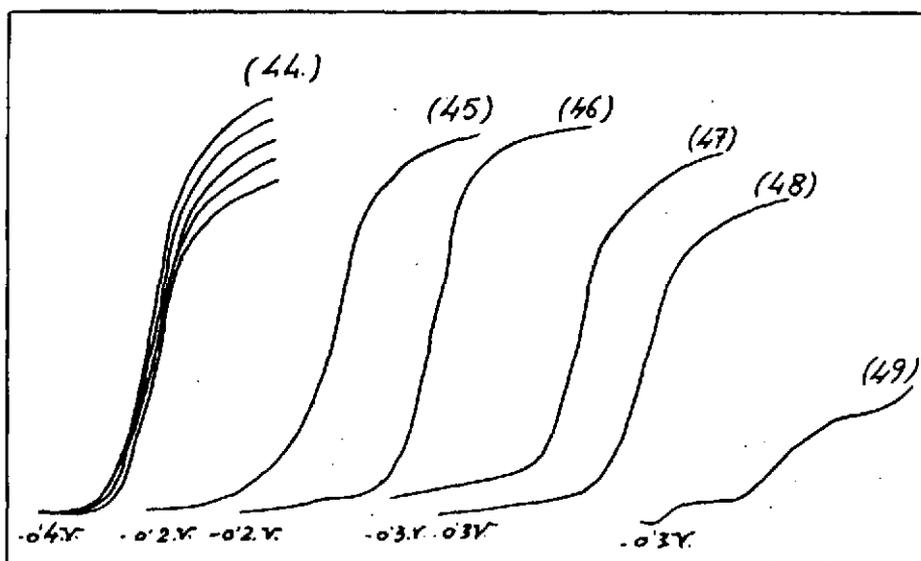
- 33.—Disolución 2.10^{-4} M regulada con biftalato-sosa en ClK 0,1 N a pH=3,78, sens.=1/100, comp.=1.
 34.—Idem., ídem. a pH=4,80, sens.=1/100.
 35.—Análogo al 34 pero con comp.=1.
 36.—Disolución 2.10^{-4} M regulada con biftalato-sosa en ClK 0,1 N a pH=5,90, sens.=1/200.
 37.—Idem., ídem. a pH=6,73, sens.=1/50.
 38.—Idem. regulada con borato-clorhídrico a pH=7,18, sens.=1/1000, 1/500, 1/200, 1/100, 1/70.

Polarogramas. del 39 al 43.

*Riboflavina*

- 39.—Disolución $2 \cdot 10^{-4}$ M regulado con borato-clorhídrico en ClK 0,1 N a pH=7,73, sens.=1/70.
 40.—Idem. regulada con borato-NaOH, a pH=8,70, sens.=1/100, 1/70.
 41.—Idem., ídem. a pH=9,70, sens.=1/150, 1/100, 1/70.
 42.—Idem, ídem. a pH=10,54, sens.=1/1000, 1/500, 1/300, 1/150, 1/100, 1/70.
 43.—Análisis de ondas. En ClK 0,1 N sin regular a pH=6,00, sens.=1/50.

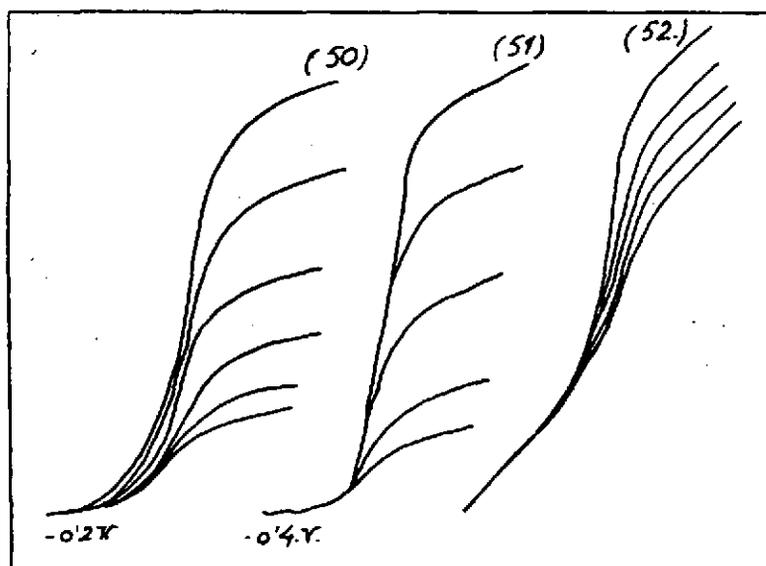
Polarogramas del 44 al 49



Riboflavina

- 44.—Análisis de ondas. En ClK 0,1 N regulado con borato-sosa a pH 10,52. Sensibilidad 1/70.
- 45.—Idem. en ClK 0,1 N sin regular a pH 6,00. Sensibilidad 1/50. Sin Eosina.
- 46.—Análogo al Polarograma 45, pero con Eosina.
- 47.—Idem. regulada con borato-sosa a pH 10,52. Sensibilidad 1/70. Sin Eosina.
- 48.—Análogo al Polarograma 47, pero con Eosina.
- 49.—Disolución 10^{-5} M regulada con borato-sosa en ClK 0,1 N a pH 10,52. Sensibilidad 1/20. Compensación 2.

Polarogramas del 50 al 52.



Riboflavina. Límite cuantitativo.

50.—En ClK 0.1 N sin regular a pH 6,00. Sensibilidad 1/30.

51.—En ClK 0,1 N regulado con borato-sosa a pH 10,52. Sensibilidad 1/50.

52.—Idem., ídem. Sensibilidad 1/10.

TABLA XI

RIBOFLAVINA

En disolución 2×10^{-4} M con ClK 0,1 N como electrolito fondo

<i>pH</i>	<i>Disolución reguladora</i>	<i>E</i> $\frac{1}{2}$
3,78	Biftalato	-0,32
4,80	»	-0,36
5,90	»	-0,44
6,73	»	-0,52
7,18	Borato	-0,50
7,77	»	-0,53
8,70	»	-0,57
9,70	»	-0,60
10,54	»	-0,64

TABLA XII

Disolución $2 \cdot 10^{-4}$ M. de riboflavina en ClK 0,1 N como electrolito fondo
pH = 6,00

<i>H</i>	<i>log H</i>	<i>hi</i>	<i>log hi</i>
320	2,505	57	1,755
370	2,568	61	1,785
420	2,623	66	1,819
470	2,672	70	1,845
520	2,716	74	1,869

H es la altura de mercurio y *hi* es la altura de onda, todo expresado en mm.

TABLA XIII

Disolución $2 \cdot 10^{-4}$ M de riboflavina, regulada con borato-NaOH
a *pH* = 10,52, con ClK 0,1 N como electrolito fondo

<i>H</i>	<i>log H</i>	<i>hi</i>	<i>log hi</i>
<i>Primera onda</i>			
320	2,505	51,5	1,712
370	2,568	55	1,740
420	2,623	58,5	1,767
470	2,672	61,5	1,785
520	2,715	65	1,812

H es la altura de mercurio en mm y *hi* es la altura de la onda en las mismas unidades.

TABLA XIV

Disolución de riboflavina en ClK 0,1 N como electrolito fondo. pH=6,00

Condiciones de trabajo

Amortiguación=8; Compensación=1; Sensibilidad=1/30

Amplificación de sensibilidad=100; Voltaje inicial=-0,2 V

<i>Concentraciones</i>	<i>hi en mm</i>
10^{-4} M	72,5
8.10^{-5} M	56
6.10^{-5} M	38,5
4.10^{-5} M	22,5
2.10^{-5} M	18
10^{-5} M	14,5

TABLA XV

Riboflavina en disolución reguladora borato-NaOH a pH=10,54,
en ClK 0,1 N como electrolito fondo*Condiciones de trabajo*

Amortiguación=8; Compensación=0; Sensibilidad=1/50

Amplificación de sensibilidad=100; Voltaje inicial=-0,4 V

<i>Concentraciones</i>	<i>hi en mm</i>
10^{-4} M	70,5
$7,72.10^{-5}$ M	55,5
$4,44.10^{-5}$ M	35,5
$1,66.10^{-5}$ M	18
10^{-5} M	11

TABLA XV A)

Condiciones de trabajo

Amortiguación=8; Compensación=1; Voltaje inicial=-0,4 V

Amplificación de sensibilidad=100; Sensibilidad=1/10

<i>Concentraciones</i>	<i>hi en mm</i>
10^{-5} M	52
$7,22.10^{-6}$ M	47
$4,44.10^{-6}$ M	42
$1,66.10^{-6}$ M	36,5
10^{-6} M	36

TABLA XVI

Disolución 2.10^{-4} M de riboflavina, en disolución de ClK 0,1 N
 pH=6,00; Altura de mercurio=170 mm; Tiempo de goteo=1,9 sg.

ONDA COMPLETA		SEMIONDA ANÓDICA		SEMIONDA CATÓDICA	
Potenc.	Volt.	Potenc.	Volt.	Potenc.	Volt.
— 0,050	67	— 0,050	38	— 0,050	30
75	63	75	35	75	27
100	57,5	100	34	100	26
125	53,5	125	32	125	24
150	49	150	30	150	21,5
175	45,5	175	28	175	19
200	42	200	25	200	18
225	38	225	23	225	17
250	35,5	250	21	250	17,5
275	35	275	20	275	18
300	36	300	19	300	19
325	38	325	18	325	21
350	41,5	350	18	350	23
375	46	375	19	375	25
400	50	400	20	400	27,5
425	55	425	22	425	31
450	60	450	24	450	34
475	64,5	475	26	475	37,5
500	68,5	500	30	500	39
525	70	525	33	525	36
550	66,5	550	36	550	27
575	59	575	37	575	20
600	50,5	600	34	600	18,5
625	43,5	625	29	625	17
650	38	650	24	650	17
675	34,5	675	20		
700	33	700	18	700	17
725	33	725	17,5		
750	33	750	17,5	750	17
775	33	775	17,5		
800	33	800	17,5	800	18

Mando de barrido de alterna en 30 mV de amplitud.

Corriente alterna de la red a 100 V y 50 c. p. s.

TABLA XVII

Disolución 2.10^{-4} M de riboflavina, en disolución reguladora borato-NaOH,
con ClK. 0,1 N de electrolito fondo

pH=10,52; Altura de mercurio=270 mm; Tiempo de gotco=2 sg.

ONDA COMPLETA		SEMIONDA ANÓDICA		SEMIONDA CATÓDICA	
Potenc.	Volt.	Potenc.	Volt.	Potenc.	Volt.
— 0,050	85	— 0,050	47	— 0,050	37
75	81,5	75	42	75	37
100	81,5	100	38	100	41
125	84	125	36	125	45
150	88,5	150	37	150	47
175	91	175	40	175	43
200	88	200	43,5	200	35
225	81	225	46	225	28
250	72	250	43,5	250	24
275	62	275	38,5	275	22
300	53	300	32	300	21
325	46	325	27	325	20
350	43	350	24	350	19
375	40	375	23	375	19
400	40	400	21	400	19
425	41,5	425	20	425	22
450	48	450	20	450	29
475	58	475	20	475	38
500	73	500	20	500	48
525	89	525	23	525	54,5
550	103	550	33	550	55
575	106	575	47	575	49
600	100	600	55	600	35
625	85	625	53	625	24
650	69	650	48	650	19
675	57	675	38	675	18
700	47	700	29	700	18
725	40	725	23	725	18
750	36	750	19	750	20
775	36	775	17		
800	36	800	17		

Mando de barrido de alterna en 30 mV de amplitud.
Corriente alterna de la red a 110 V y 50 c. p. s.

TABLA XVIII

Disolución 2.10^{-4} M de riboflavina, regulada con borato-NaOH,
en ClK 0,1 N como electrolito fondo

pH=10,52; Altura de mercurio=280 mm; Tiempo de goteo=2,24 sg.

ONDA COMPLETA		SEMIONDA ANÓDICA		SEMIONDA CATÓDICA	
Potenc.	Volt.	Potenc.	Volt.	Potenc.	Volt.
— 0,050	98	— 0,050	57	— 0,050	48
75	96	75	52	75	51
100	96,5	100	49	100	56
125	102	125	48	125	58
150	105	150	49	150	55
175	101	175	53	175	45
200	91	200	57	200	35
225	82	225	56	225	29
250	72	250	51	250	25
275	61	275	43	275	24
300	51	300	36	300	22,5
325	46	325	30	325	22
350	39	350	26	350	22
375	37,5	375	25	375	23
400	40	400	23,5	400	26
425	47	425	22	425	33
450	59	450	22	450	43
475	75	475	22	475	56
500	92	500	23	500	68
525	112	525	32	525	72
550	126	550	46	550	65
575	122	575	66	575	46
600	108	600	72	600	32
625	85	625	68	625	24
650	70	650	55	650	22
675	57	675	43	675	22
700	47	700	33	700	22
725	42	725	27	725	22
750	38	750	24		
775	37	775	23		
800	36	800	23	800	22

Mando de barrido de alterna en 30 mV de amplitud.
Corriente alterna de la red a 110 V y 50 c. p. s.

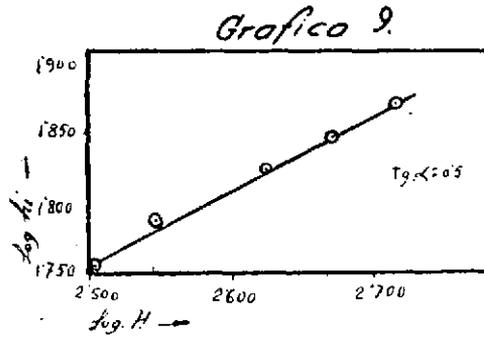
TABLA XIX

Disolución 2.10^{-4} M de riboflavina, regulada con borato-NaOH,
en ClK 0,1 N como electrolito fondo

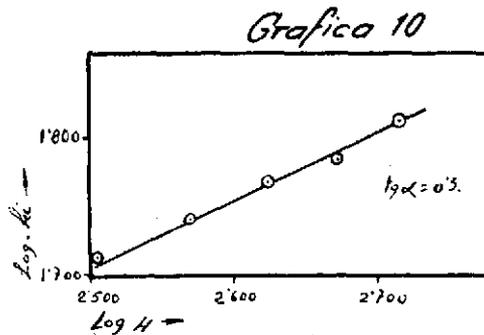
pH=10,52; Altura de mercurio=280 mm; Tiempo de goteo=2 sg.
Conteniendo Eosina en conc. $6,66.10^{-4}$ M

ONDA COMPLETA		SEMIONDA ANÓDICA		SEMIONDA CATÓDICA	
Potenc.	Volt.	Potenc.	Volt.	Potenc.	Volt.
— 0,050	40	— 0,050	27	— 0,050	20
75	36	75	23	75	20
100	33	100	20	100	20
125	30	125	20	125	19
150	28	150	19	150	18
175	25	175	19	175	16
200	23	200	19	200	15
225	22	225	19	225	15
250	20	250	18,5	250	15
275	20	275	17	275	15
300	20	300	15	300	15
325	20	325	15	325	15
350	20	350	15	350	15
375	20	375	15	375	15
400	20	400	15	400	15,5
425	21	425	15	425	16,5
450	22	450	15	450	19
475	27	475	15	475	24
500	33	500	15,5	500	28
525	38	525	16	525	28,5
550	40	550	19	550	26,5
575	38	575	24	575	23
600	37,5	600	26	600	20
625	35	625	26,5	625	19
650	33	650	25	650	18
675	29,5	675	22	675	17,5
700	27	700	20	700	17,5
725	26	725	18	725	17,5
750	25	750	18		
775	25	775	17		
800	25	800	17		

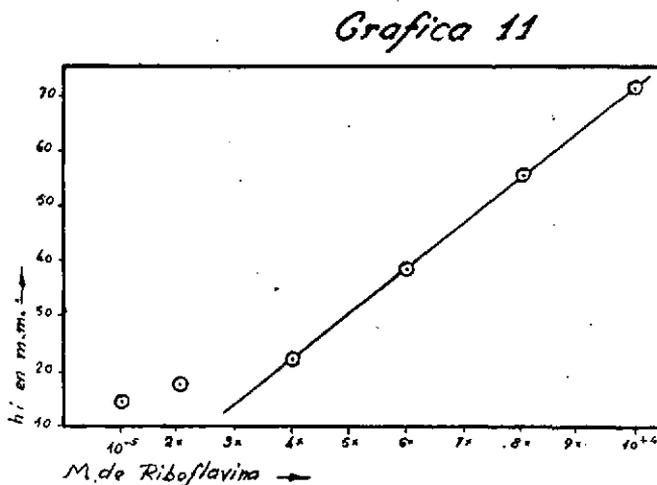
Mando de barrido de alterna en 30 mV de amplitud.
Corriente alterna de la red a 110 V y 50 c. p. s.



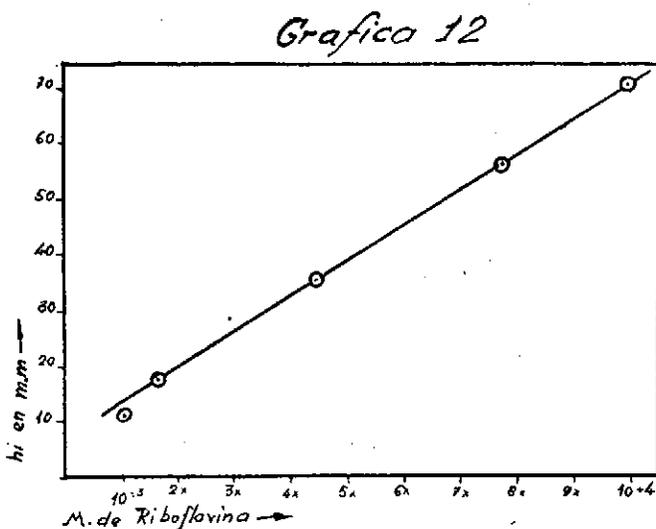
Análisis de la onda de riboflavina en ClK 0,1 N sin regular a pH 6,00



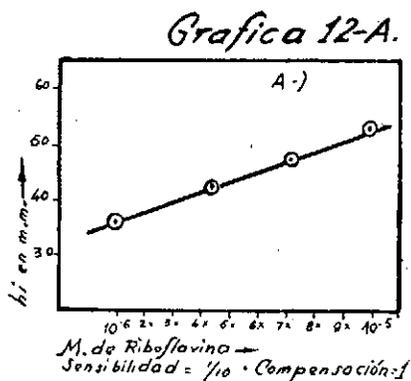
Análisis de la onda de riboflavina en ClK 0,1 N regulando con borato-sosa a pH 10,52



Límite cuantitativo de la onda de riboflavina en ClK 0,1 N sin regular a pH 6,00

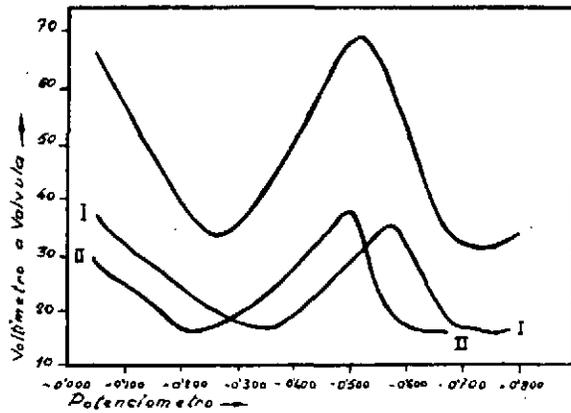


Límite cuantitativo de la onda de riboflavina en CIK 0,1 N regulado con borato-sosa a pH 10,54, con sensibilidad 1/50 y sin compensación



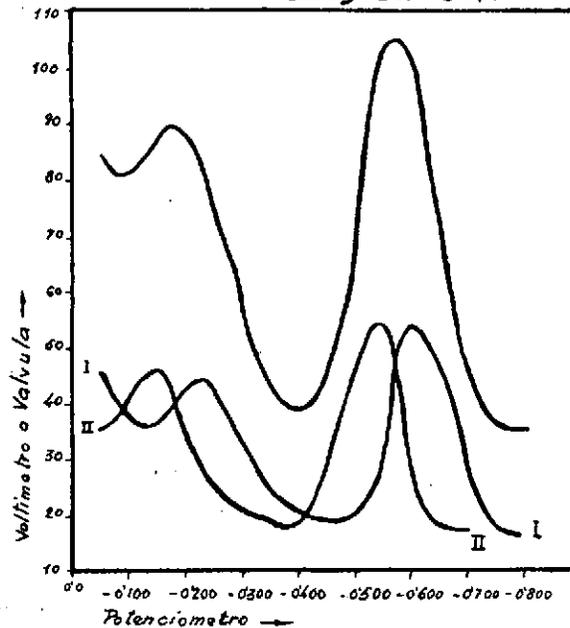
Análoga a la Gráfica 12, con distinta sensibilidad y compensación

Grafica 13.



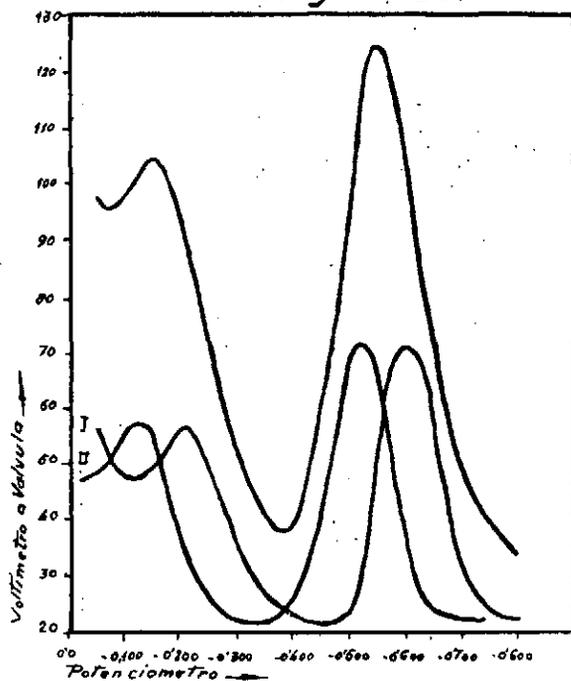
Curva de campana de la onda de riboflavina en ClK 0,1 N sin regular a pH 6,00

Grafica 14.



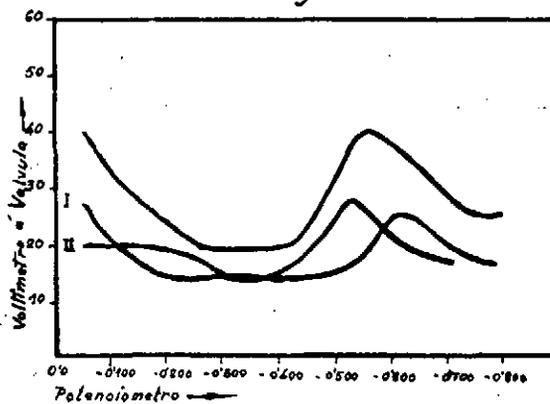
Curva de campana de la onda de riboflavina en ClK 0,1 N regulado con borato-sosa a pH 10,52

Grafica 15.



Curva de campana de riboflavina en ClK 0,1 N regulando con borato-sosa a pH 10,52; sin Eosina

Grafico 16



Curva de campana de la onda de riboflavina en las mismas condiciones que la Gráfica 15, pero con Eosina en concentración $6,66 \cdot 10^{-4}$ M

Riboflavina, disolución $2 \cdot 10^{-4}$ M en ClK 0,1 N sin regular a pH = 6,00

Fotog. 21

Fotog. 22

Fotog. 23



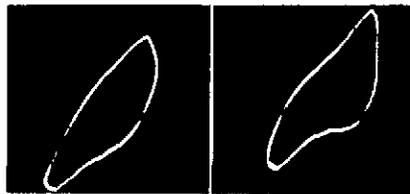
-0,525 V

-0,525 V

-0,525 V

Fotog. 24

Fotog. 25



-0,475 V

-0,575 V

Fotog. 26

Fotog. 27

Fotog. 28



-0,525 V

-0,525 V

-0,525 V

Fotog. 29

Fotog. 30

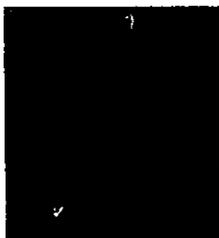


-0,475 V

-0,575 V

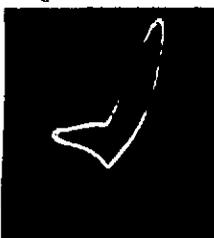
Riboflavina, disolución $2 \cdot 10^{-4}$ M en ClK 0,1 N regulada con borato-sosa
a pH = 10,52

Fotog. 31



-0,575 V

Fotog. 32



-0,575 V

Fotog. 33



-0,575 V

Fotog. 34



-0,525 V

Fotog. 35



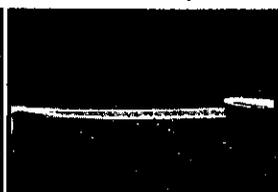
-0,625 V

Fotog. 36



-0,575 V

Fotog. 37



-0,575 V

Fotog. 38



-0,575 V

Fotog. 39



-0,525 V

Fotog. 40



-0,625 V

Nicotinamida.—Trabajamos con disoluciones de concentración 10^{-3} M de nicotinamida en ClK 0,1 N de electrolito fondo.

Iniciamos el trabajo polarográfico con nicotinamida de tipo farmacéutico en ClK 0,1 N sin regular a $\text{pH}=5,62$, obteniendo una onda que se inicia a $-1,6$ V y termina a $-1,83$ V con $E_{1/2} = -1,76$ V: Al repetir este polarograma con disolución de nicotinamida pura Merck, en las mismas condiciones, obtenemos una onda que empieza a $-1,53$ V y termina a $-1,87$ V con $E_{1/2} = -1,73$. [Polarogramas 53 y 54].

Al trabajar a $\text{pH} = 3,80$ y a $\text{pH} 4,84$ en ClK 0,1 N, regulando con biftalato-NaOH, se obtienen dos ondas contiguas, observando que en el primer valor de pH la altura de la segunda onda es 2,5 veces mayor que la primera y que termina en un máximo, iniciándose la primera onda a $-1,1$ V y terminando la segunda a $-1,5$ V; en el segundo valor de pH , la segunda onda tiene aproximadamente la misma altura que la primera, iniciándose la primera onda a $-1,15$ V y terminando la segunda a $-1,46$ V, desapareciendo el máximo. [Polarogramas 55 y 56].

A $\text{pH} 5,92$, regulando con biftalato-NaOH, las dos ondas aparecen ya separadas, iniciándose la primera a $-1,25$ V y terminando a $-1,4$ V con $E_{1/2} = -1,36$ V; la segunda onda empieza a $-1,53$ V y termina a $-1,87$ V con $E_{1/2} = -1,70$ V. [Polarogramas 57 y 58].

A $\text{pH} 6,80$, regulando con biftalato-NaOH, se presenta una sola onda clara y definida entre $-1,53$ V y $-1,87$ V con $E_{1/2} = -1,71$ V. [Polarogramas 59 y 60].

A $\text{pH} 7,26$ regulando con borato-ClH en ClK 0,1 N, se presentan dos ondas contiguas que se inician a $-1,4$ V y terminan a $-1,80$ V con un valor del potencial de onda media de la onda conjunta $E_{1/2} = -1,6$ V. [Polarograma 61].

A $\text{pH} 7,86$, en disolución regulada con borato-ClH, la onda que aparece empieza a $-1,5$ V y termina a $-1,80$ V con $E_{1/2} = -1,65$ V. [Polarograma 62].

A $\text{pH} 8,80$, regulando con borato-NaOH, la onda se inicia a $-1,55$ V y finaliza a $-1,85$ V con $E_{1/2} = -1,69$ V. [Polarograma 63].

A $\text{pH} 9,87$, en disolución regulada con borato-NaOH, la onda se inicia a $-1,63$ V, terminando a $-1,85$ con $E_{1/2} = -1,74$ V. [Polarograma 64].

Y por último a $\text{pH} 10,56$ regulando con el mismo sistema anterior, la onda empieza a $-1,65$ V y termina a $-1,87$ V con $E_{1/2} = -1,75$ V. [Polarograma 65].

La variación de los potenciales de onda media con los distintos valores de pH , de disoluciones 10^{-3} M de nicotinamida en ClK 0,1 N, reguladas con los sistemas que se indican están resumidos en la Tabla XX.



Realizamos un estudio de la onda polarográfica de nicotinamida en ClK 0,1 N, sin regular a pH 6,30 y en ClK 0,1 N regulado con borato-NaOH a pH 9,83, que son las condiciones en las que esta onda está más definida. Para ello preparamos disoluciones 10^{-3} M en ambas condiciones y hacemos polarogramas a 320, 370, 420, 470 y 520 mm de altura de mercurio. En las Tablas XXI y XXII se reúnen los valores de las alturas de onda correspondientes a las expresadas alturas de mercurio, así como los logaritmos de dichos valores. La Tabla XXI contiene los resultados correspondientes a la onda de nicotinamida en ClK 0,1 N sin regular a pH 6,30, y la Tabla XXII contiene los resultados de la onda en ClK 0,1 N, regulada con borato-NaOH a pH 9,83. [Polarogramas 66 y 67].

La demostración gráfica de las ecuaciones 34 y 35, las efectuamos para la onda de nicotinamida en ClK 0,1 N, sin regular a pH 6,30 en las Gráficas 17 y 17 A; y para la disolución en ClK 0,1 N regulada con borato-NaOH a pH 9,83 en las Gráficas 18 y 18 A, obteniendo en ambos casos que la onda no es de difusión, pero sí una onda catalítica de adsorción.

Tratamos ahora de determinar el límite inferior cuantitativo (o sea el límite inferior en el que la concentración es proporcional a la altura de onda) en ClK 0,1 N, regulado con borato-NaOH a pH 9,86, y en ClK 0,1 N sin regular. Para ello trazamos los polarogramas manteniendo constantes todas las condiciones a excepción de las concentraciones de nicotinamida, midiendo las correspondientes alturas de onda de los polarogramas y llevando, de acuerdo con la ecuación 37, las molaridades de las disoluciones a las abscisas de un papel milimetrado y las alturas de onda *hi* a las ordenadas del mismo, comprobamos el punto correspondiente a la menor concentración de nicotinamida que se halla en línea recta.

Los valores obtenidos de la disolución en ClK 0,1 N regulado con borato-NaOH a pH 9,86, procedentes del polarograma 68, están expresados en la Tabla XXIII, y su representación en la Gráfica 19, observándose que en estas condiciones el límite cuantitativo es $2 \cdot 10^{-4}$ M.

Los valores correspondientes a la disolución en ClK 0,1 N sin regular a pH 6,44 se expresan en la Tabla XXIV y se representan en la Gráfica 20, hallando el límite inferior cuantitativo, que es $4 \cdot 10^{-4}$ M. [Polarograma 69].

Procedemos ahora a aplicar los criterios oscilopolarográficos de reversibilidad (44) al estudio de la onda catalítica de la nicotinamida en ClK 0,1 N, regulado con borato-NaOH a pH 9,83 y en ClK 0,1 N sin regular a pH 6,30.

Estudiamos primero la reversibilidad de la nicotinamida en ClK 0,1 N, regulado con borato-NaOH a pH 9,83.

Del estudio comparativo de las figuras oscilográficas en el potencial de máxima simetría $E_{1/2} = -1,775$ V (fotografías 41, 42 y 43), la 41 de la onda completa, la 42 de la semionda anódica y la 43 de la catódica, así como de las figuras de barrido a este mismo potencial (fotografías 46, 47 y 48) de figura completa, figura superior e inferior respectivamente, deducimos que la reacción polarográfica no es reversible, por carecer de simetría las indicadas figuras, observando que las correspondientes a la parte catódica son mayores que las que corresponden a la anódica.

Carecen también de simetría las figuras de las fotografías 44 y 45 a potenciales equidistantes del de máxima simetría, así como tampoco son simétricas las de barrido a estos mismos potenciales (fotografías 49 y 50).

Al trazar la curva de campana con el voltímetro a válvula, obtenemos los valores reseñados en la Tabla XXV, cuya representación hacemos en la Gráfica 21, observándose también que la semionda catódica tiene una altura mucho mayor que la anódica. Con lo que se comprueba que tampoco obedece este criterio de reversibilidad.

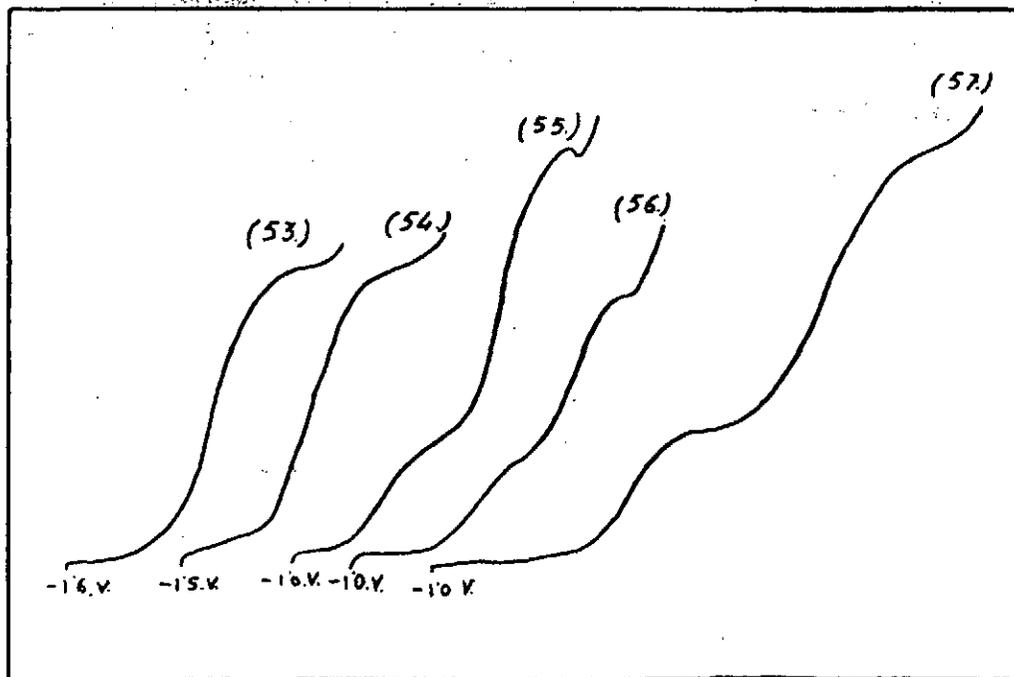
Realizamos idéntica comprobación con la nicotinamida en ClK 0,1 N sin regular a pH 6,30, observando de la comparación y estudio de las fotografías 51, 52 y 53, obtenidas en el potencial de máxima simetría $E_{1/2} = -1,800$ V, y que también sucede a este mismo potencial de máxima simetría con las figuras de barrido (fotografías 56, 57 y 58); tanto en las figuras completas como en la semionda anódica y catódica, y es que carecen de simetría, no cumpliendo este criterio de reversibilidad.

A potenciales equidistantes del de simetría (fotografías 54 y 55) y en las figuras de barrido a estos mismos potenciales (fotografías 59 y 60) las figuras tampoco son simétricas, y no cumplen por lo tanto este criterio de reversibilidad.

Al trazar la curva de campana con el voltímetro a válvula, obtenemos los valores reseñados en la Tabla XXVI, realizando su representación en la Gráfica 22, comprobándose que la semionda catódica tiene una altura mucho mayor que la anódica, y que no cumple este criterio de reversibilidad, por lo que la clasificamos como una reacción irreversible.

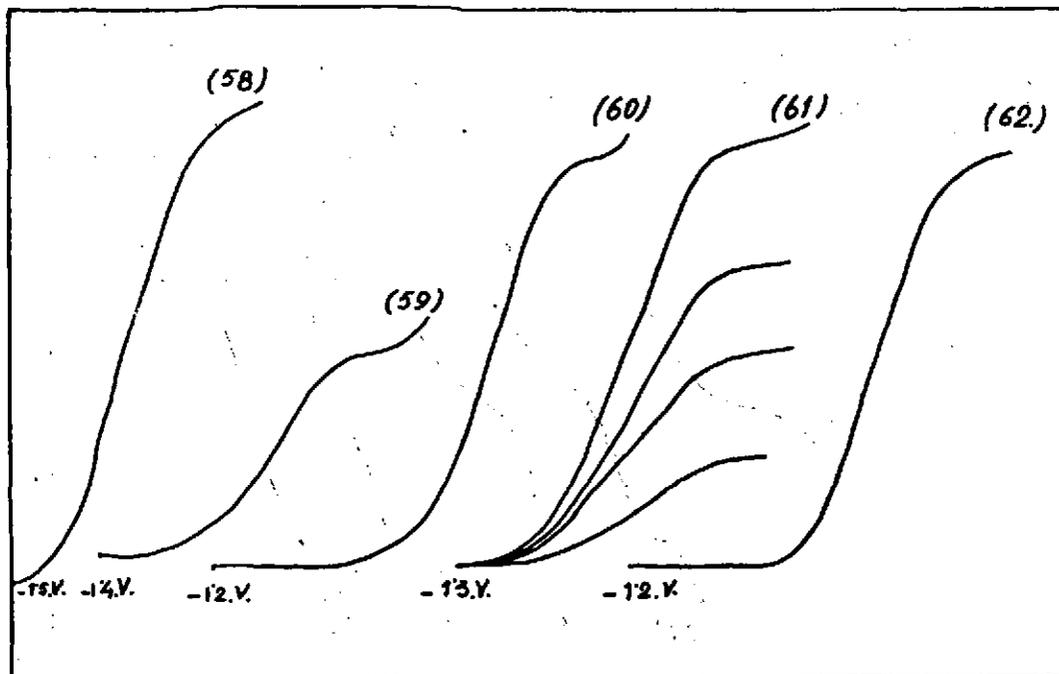
La comprobación en la aplicación de los anteriores criterios (tanto en ClK 0,1 N sin regular a pH 6,30, como regulando con borato-NaOH a pH 9,83) de una amplitud mucho mayor en las figuras correspondientes a la semionda catódica (tanto en las figuras cerradas como en las de barrido) respecto a las correspondientes a la semionda anódica, nos dicen que la onda polarográfica se debe a un proceso irreversible de reducción, lo que está de acuerdo con la bibliografía (16), (17) y (18).

Polarogramas del 53 al 57

*Nicotinamida*

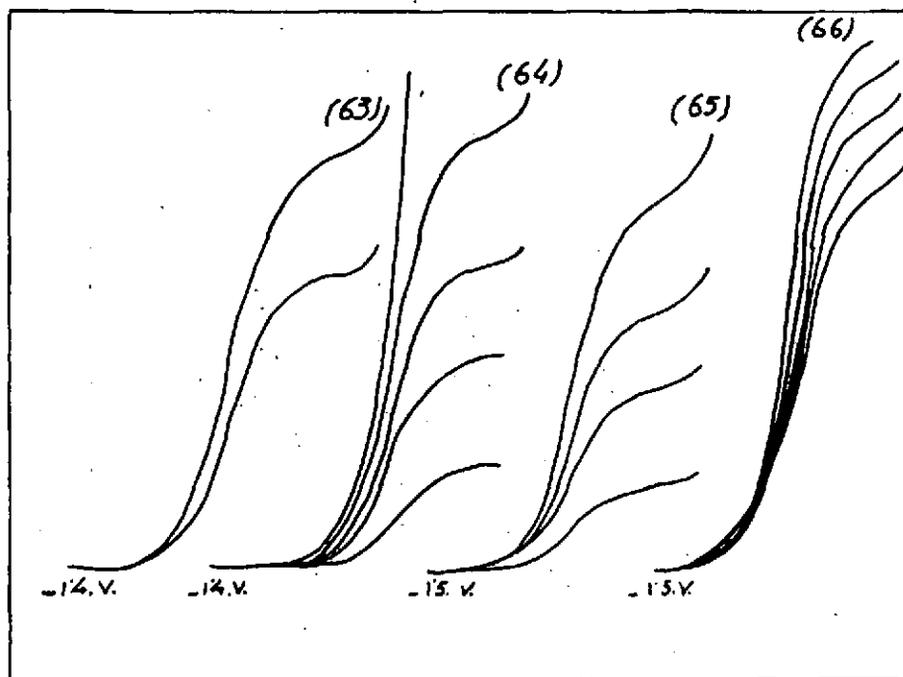
- 53.—Disolución 10^{-3} M en ClK 0,1 N, después de pasar hidrógeno durante quince minutos. Sensibilidad 1/500.
 54.—Idem. regulado con biftalato-sosa a pH 5,62. Sensibilidad 1/700.
 55.—Idem., ídem. a pH 3,80. Sensibilidad 1/1000.
 56.—Idem., ídem. a pH 4,84. Sensibilidad 1/1000.
 57.—Idem., ídem. a pH 5,92. Sensibilidad 1/700.

Polarogramas del 58 al 62

*Nicotinamida*

- 58.—Disolución 10^{-3} M en ClK 0,1 N regulado con biftalato-sosa a pH 5,92. Sensibilidad 1/300.
- 59.—Idem., ídem. a pH 6,80. Sensibilidad 1/1000.
- 60.—Idem., ídem., ídem. Sensibilidad 1/500.
- 61.—Idem. regulada con borato-ClH a pH 7,26. Sensibilidades 1/2000, 1/1000, 1/700, 1/500.
- 62.—Idem., ídem. a pH 7,86. Sensibilidad 1/700.

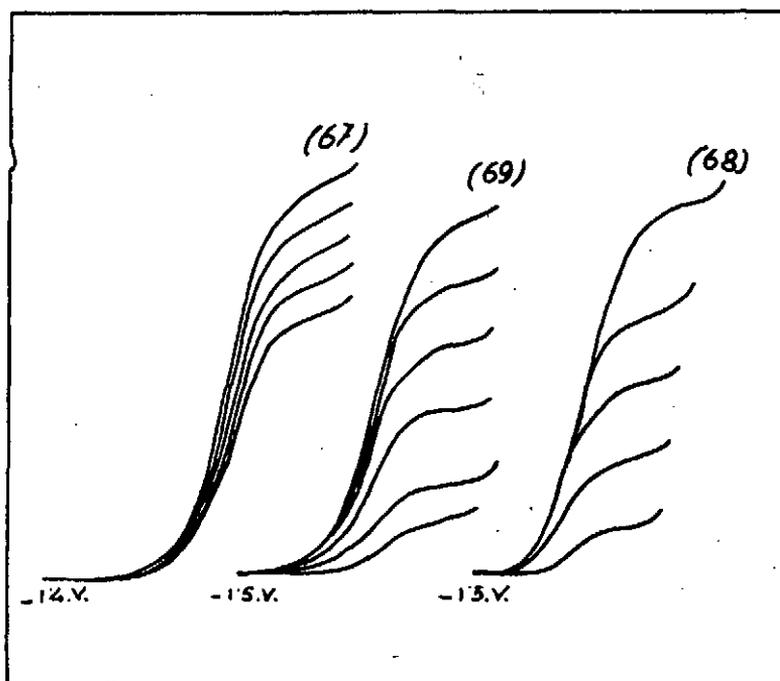
Polarogramas del 63 al 66.



Nicotinamida

- 63.—Disolución 10^{-3} M en ClK 0,1 N regulada con borato-sosa a pH 8,80. Sensibilidades 1/700, 1/500.
 64.—Idem., ídem. a pH 9,87. Sensibilidades 1/2000, 1/1000, 1/700 y 1/500.
 65.—Idem., ídem. a pH 10,56. Sensibilidades 1/2000, 1/1000, 1/700, 1/500.
 66.—Análisis de onda. En ClK 0,1 N sin regular a pH 6,30. Sensibilidad 1/500.

Polarogramas del 67 al 69.

*Nicotinamida*

- 67.—Análisis de onda. En ClK 0,1 N regulado con borato-sosa a pH 9,83. Sensibilidad 1/700.
 68.—Límite cuantitativo en ClK 0,1 N regulado con borato-sosa a pH 9,86. Sensibilidad 1/500.
 69.—Límite cuantitativo en ClK 0,1 N sin regular, pH 6,44. Sensibilidad 1/500.

TABLA XX
NICOTINAMIDA

En disolución 10^{-3} M con ClK 0,1 N como electrolito fondo

<u>pH</u>	<u>Disolución reguladora</u>	<u>$E \frac{1}{2}$</u>
3,80	Biftalato	Interfiere la onda de hidrógeno.
4,84	»	»
5,92	»	Se presentan dos ondas separadas. 1. ^a $E \frac{1}{2} = -1,36$ 2. ^a $E \frac{1}{2} = -1,70$
6,80	»	-1,71
7,26	Borato	Se presentan dos ondas contiguas, con un valor de $E \frac{1}{2}$ de la onda total de -1,60
7,86	»	-1,65
8,80	»	-1,69
9,87	»	-1,74
10,56	»	-1,75

TABLA XXI

Disolución 10^{-3} M de nicotinamida, en ClK 0,1 N, de electrolito fondo
pH = 6,30

<u>H</u>	<u>log H</u>	<u>hi</u>	<u>log hi</u>
320	2,505	62,2	1,793
370	2,568	68,5	1,835
420	2,623	75	1,875
470	2,672	82	1,913
520	2,716	89	1,949

Representando H la altura de mercurio en mm, y hi la altura de onda en las mismas unidades.

TABLA XXII

Disolución 10^{-3} M de nicotinamida, en disolución reguladora de borato-NaOH
a pH=9,83, con ClK 0,1 N de electrolito fondo

<u>H</u>	<u>log H</u>	<u>hi</u>	<u>log hi</u>
320	2,505	45	1,653
370	2,568	51,5	1,712
420	2,623	57	1,755
470	2,672	62,5	1,795
520	2,716	68	1,832

Donde H representa la altura de mercurio en mm y hi la altura de onda en idénticas unidades.

TABLA XXIII

Nicotinamida regulada con borato-NaOH a pH=9,86, en ClK 0,1 N como electrolito fondo

Condiciones de trabajo

Amortiguación=8; Compensación=0; Sensibilidad=1/500
Amplificación de sensibilidad=100; Voltaje inicial=-1,5 V

<u>Concentraciones</u>	<u>hi en mm</u>
10^{-3} M	61
$7,22 \cdot 10^{-4}$ M	45
$4,44 \cdot 10^{-4}$ M	32
$1,66 \cdot 10^{-4}$ M	18
10^{-4} M	8

TABLA XXIV

Nicotinamida en disolución 0,1 N de ClK como electrolito fondo. pH = 6,44

Condiciones de trabajo

Análogas a las de la Tabla anterior

<u>Concentraciones</u>	<u>hi en mm</u>
10^{-3} M	59,5
$8 \cdot 10^{-4}$ M	49
$6 \cdot 10^{-4}$ M	39
$4 \cdot 10^{-4}$ M	28
$2 \cdot 10^{-4}$ M	14
10^{-4} M	6

TABLA XXV

Disolución 10^{-3} M de nicotinamida, en disolución reguladora borato-NaOH,
con ClK 0,1 N de electrolito fondo

pH=9,83; Altura de mercurio=190 mm; Tiempo de goteo=1,9 sg.

ONDA COMPLETA		SEMIONDA ANÓDICA		SEMIONDA CATÓDICA	
Potenc.	Volt.	Potenc.	Volt.	Potenc.	Volt.
— 1,500	29				
550	29				
600	28	— 1,600	16	— 1,600	15
625	28,5	625	16	625	16
650	30	650	16	650	18
675	31,5	675	16	675	20,5
700	33	700	16	700	22,5
725	34,5	725	16,5	725	24
750	36,5	750	18	750	25
775	37	775	19	775	24
800	37	800	20	800	22
825	37,5	825	21	825	20,5
850	38	850	21	850	20,5
875	40	875	20	875	23
900	19	900	19		
		925	19		

Mando de barrido de alterna en 30 mV de amplitud.
Corriente alterna de la red a 110 V y 50 c. p. s.

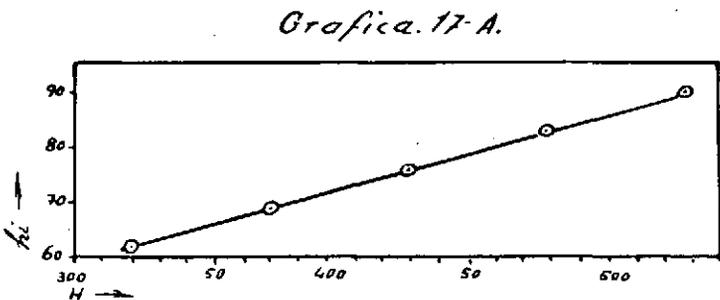
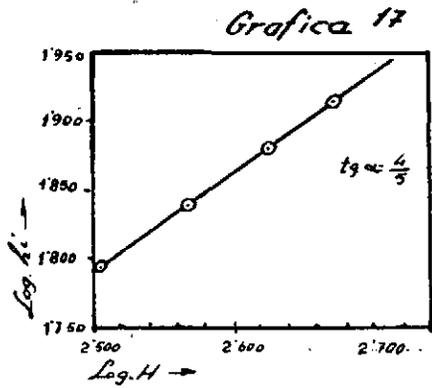
TABLA XXVI

Disolución 10^{-4} M de nicotinamida, en disolución de ClK 0,1 N
de electrolito fondo

pH=6,30; Altura de mercurio=210 mm; Tiempo de goteo=1,8 sg.

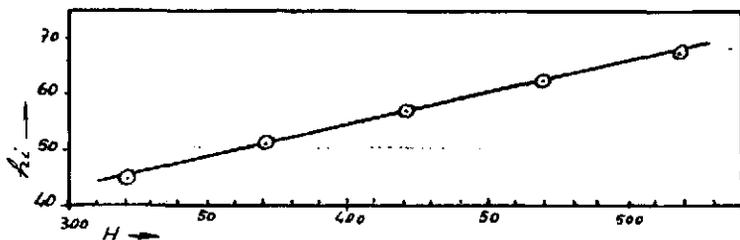
ONDA COMPLETA		SEMIONDA ANÓDICA		SEMIONDA CATÓDICA	
Potenc.	Volt.	Potenc.	Volt.	Potenc.	Volt.
-1,500	28	-1,500	15,5	-1,500	16
525	27,5	525	15	525	16
550	27	550	15	550	16
575	27	575	15	575	16
600	27	600	15	600	16
625	27,5	625	15	625	16,5
650	28	650	15	650	18,5
675	30	675	15	675	21
700	31,5	700	15	700	23,5
725	33,5	725	15	725	25,5
750	35,5	750	16,5	750	27
775	37	775	18	775	26,5
800	38	800	19,5	800	25
825	37,5	825	20,5	825	22,5
850	36,5	850	21	850	20
875	36,5	875	20,5	875	20
900	37	900	19,5	900	23
		950	18,5		

Mando de barrido de alterna en 30 mV de amplitud.
Corriente alterna de la red a 110 V y 50 c. p. s.

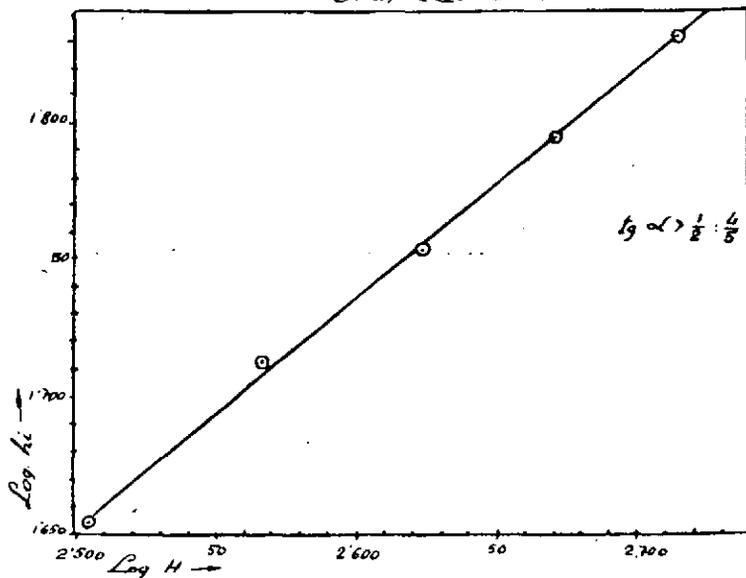


Análisis de onda de nicotinamida en ClK 0,1 N sin regular a pH 6,30

Grafica 18.

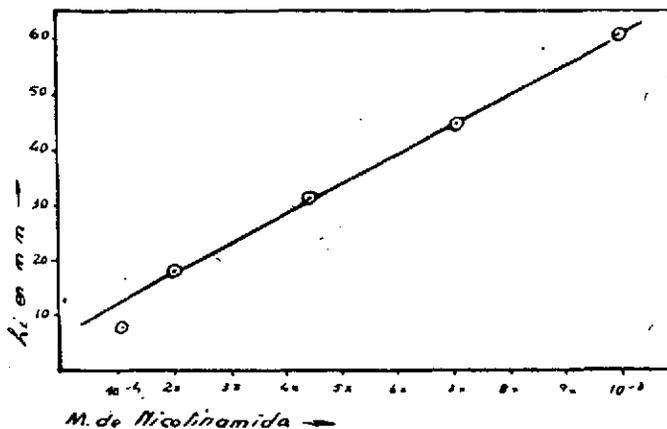


Grafica. 18. A.



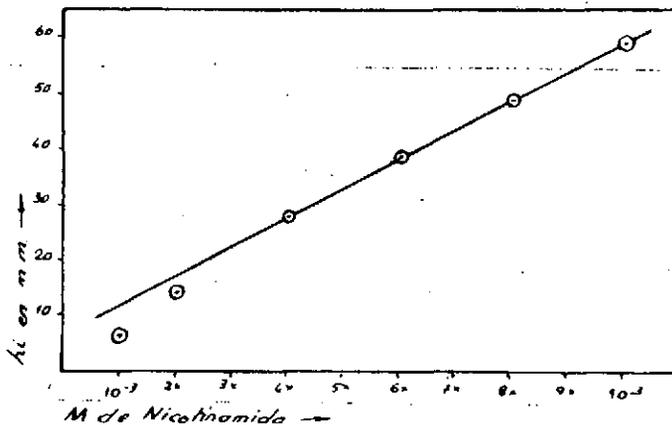
Análisis de la onda de nicotinamida en ClK 0,1 N regulado con borato-sosa a pH 9,83

Grafica 19.



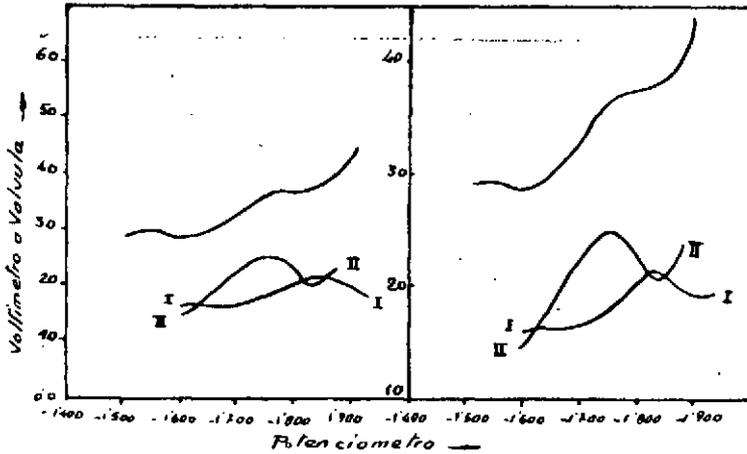
Límite cuantitativo de la onda de nicotinamida en CIK 0,1 N regulado con borato-sosa a pH 9,83

Grafica 20.



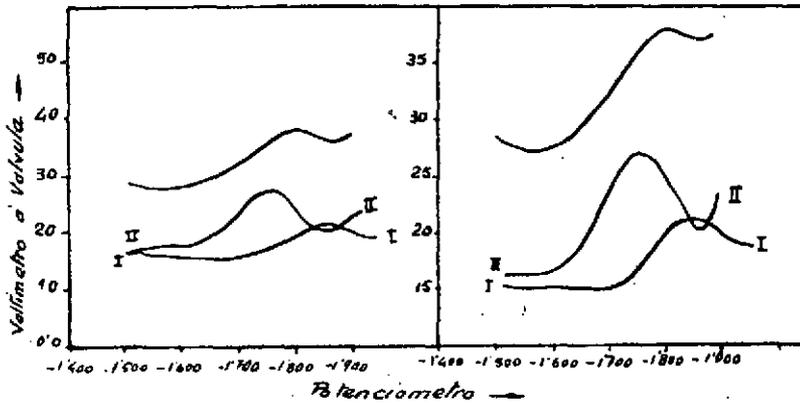
Límite cuantitativo de la onda de nicotinamida en CIK 0,1 N sin regular a pH 6,44

Grafica 21



Curva de campana de la onda de nicotinamida en CIK 0,1 N regulado con borato-sosa a pH 9,86

Grafica 22



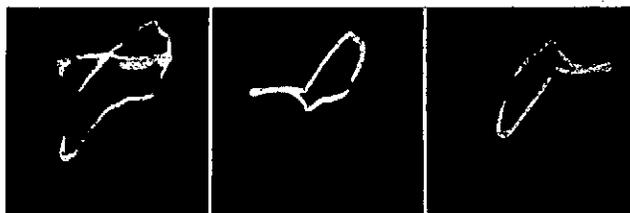
Curva de campana de la onda de nicotinamida en CIK 0,1 N sin regular a pH 6,30

Nicotinamida, disolución 10^{-3} M en ClK 0,1 N, regulada con borato-sosa a pH = 9,83

Fotog. 41

Fotog. 42

Fotog. 43



-1,775 V

-1,775 V

-1,775 V

Fotog. 44

Fotog. 45



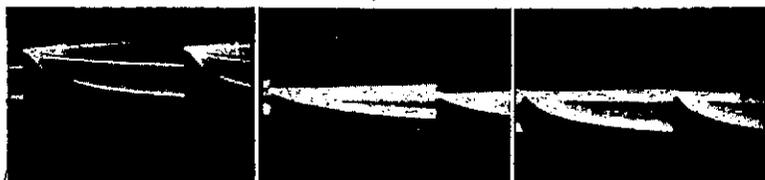
-1,725 V

-1,825 V

Fotog. 46

Fotog. 47

Fotog. 48



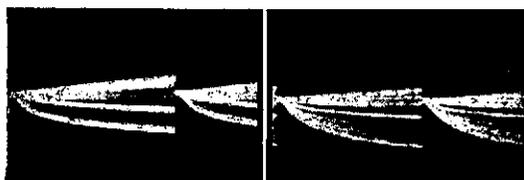
-1,775 V

-1,775 V

-1,775 V

Fotog. 49

Fotog. 50



-1,725 V

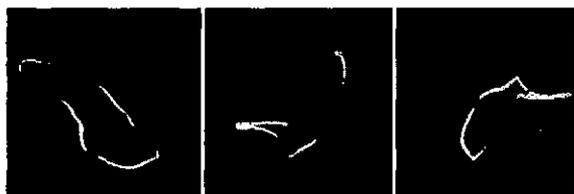
-1,825 V

Nicotinamida disolución 10^{-3} M en ClK 0,1 N sin regular a pH = 6,30

Fotog. 51

Fotog. 52

Fotog. 53



-1,800 V

-1,800 V

-1,800 V

Fotog. 54

Fotog. 55



-1,700 V

-1,900 V

Fotog. 56

Fotog. 57

Fotog. 58



-1,800 V

-1,800 V

-1,800 V

Fotog. 59

Fotog. 60



-1,700 V

-1,900 V

Acido nicotínico.—Se trabaja con disoluciones de ácido nicotínico de concentración 10^{-3} M en ClK 0,1 N como electrolito fondo.

Empezamos el trabajo polarográfico con ácido nicotínico de tipo farmacéutico en ClK 0,1 N sin regular a pH 4,26, obteniendo un polarograma con dos ondas consecutivas que terminan en máximo, la primera se inicia a $-1,07$ V y termina a $-1,45$ V, y la segunda se inicia a $-1,50$ V y finaliza a $-1,70$ V, siendo los valores de $E \frac{1}{2}$ de la primera $-1,25$ V y de la segunda $-1,54$ V. [Polarograma 70].

Comprobamos si el ácido nicotínico da onda polarográfica en forma de sal sódica a pH alcalino, para lo cual añadimos a la disolución anterior 4 cc de NaOH 0,1 N y trazamos el polarograma obteniendo una línea recta y horizontal que empieza su elevación a $-1,93$ V que es donde sale la disolución fondo, lo que nos demuestra que la sal sódica del ácido nicotínico no es polarográficamente activa. [Polarograma 71].

Trabajando con ácido nicotínico puro R. A. de la casa Merck en disolución no regulada de ClK 0,1 N a pH 4,26 obtenemos las mismas dos curvas que en el de tipo farmacéutico, pero sin máximos; la primera se inicia a $-1,15$ V, no pudiéndose separar con claridad el final de la primera onda y el principio de la segunda, terminando la segunda onda en recta horizontal a un potencial de $-1,64$ V, teniendo los potenciales de onda media cada una de las ondas, valores análogos que en el caso anterior. [Polarograma 72].

Trabajando a pH 3,81, en disolución regulada con biftalato-NaOH, se comprueba la interferencia de la onda de hidrógeno, y resulta una onda conjunta que empieza a $-1,15$ V y termina en un máximo a $-1,45$ V con $E \frac{1}{2} = -1,33$ V. [Polarograma 73].

A pH 4,80 regulando con biftalato-NaOH, la onda conjunta se inicia a $-1,27$, finalizando sin máximo a $-1,45$ V, $E \frac{1}{2} = -1,37$ V. [Polarograma 74].

A pH 5,78 en disolución regulada con biftalato-NaOH aparece ya una sola onda que se inicia a $-1,43$ V y termina a $-1,77$ V con una curva de salida muy amplia, siendo $E \frac{1}{2} = -1,56$ V, observándose que el hidrógeno sólo interfiere la salida de onda. [Polarograma 75].

Regulando con biftalato-NaOH a pH 6,23 se observa ya la onda de ácido nicotínico bien definida, con iniciación a $-1,52$ V y salida a $-1,72$, con una pendiente elevada y un valor de $E \frac{1}{2} = -1,61$ V. [Polarograma 76].

A pH 7,20, regulando la disolución con borato-ClH, se observa una onda perfectamente definida con entrada y salida horizontales a $-1,53$ V y $-1,75$ V respectivamente, presentando en estas condiciones la onda su máxima altura, $E \frac{1}{2} = -1,63$ V. [Polarograma 77].

A pH 7,82, regulando con borato-NaOH la onda de ácido nicotínico pierde horizontalidad en su entrada y salida disminuyendo un poco su altura con respecto al pH anterior; iniciándose a $-1,59$ y terminando en $-1,74$ con $E_{1/2} = -1,66$ V. [Polarograma 78].

A pH 8,38 en disolución regulada con borato-NaOH, disminuye la altura de onda y aumenta la pendiente de su salida, empezando la onda a $-1,58$ V y terminando a $-1,77$ V con $E_{1/2} = -1,67$ V. [Polarograma 79].

Regulando con borato-NaOH a pH 8,77 la curva disminuye de altura y aumenta la pendiente de salida de tal forma que sólo con sensibilidades bajas puede ser definida, iniciándose a $-1,58$ V y terminando a $-1,72$ V, con $E_{1/2} = -1,665$ V. [Polarograma 80].

A pH 9,72 regulando con borato-NaOH, desaparece por completo la onda del ácido nicotínico.

La variación de los valores de $E_{1/2}$ con el pH en disoluciones reguladas con los sistemas que se expresan, están resumidos en la Tabla XXVII.

Procedemos a realizar el estudio de las dos ondas polarográficas de ácido nicotínico en ClK 0,1 N sin regular a pH 4,12, y de la onda que se obtiene en ClK 0,1 N regulando con borato-ClH a pH 7,30, las primeras por ser las clásicas de estudio del ácido nicotínico y la segunda por ser donde hemos obtenido una onda más amplia y definida en todo el rango de pH estudiado. Para ello preparamos disoluciones de concentración 10^{-3} M en ambas condiciones y trazamos polarogramas a 320, 370, 420, 470 y 520 mm de altura de mercurio. En las Tablas XXVIII y XXIX se reúnen los valores de las alturas de onda correspondientes a las expresadas alturas de mercurio, así como los logaritmos de dichos valores. La Tabla XXVIII contiene los resultados correspondientes a la onda de ácido nicotínico a pH 7,30 regulando con borato-NaOH; y la Tabla XXIX contiene los resultados de las ondas en ClK 0,1 N sin regular a pH 4,12.

La demostración gráfica de las ecuaciones 34 y 35, las efectuamos para la onda de nicotínico en disoluciones regulada con borato-ClH a pH 7,30, en las Gráficas 23 y 24, obteniendo que en este caso se trata de una onda catalítica. [Polarograma 81]. La demostración de las mismas ecuaciones para las dos ondas de ácido nicotínico en ClK 0,1 N sin regular a pH 4,12, las efectuamos en la Gráfica 25 para la primera onda y en las Gráficas 25 A, para la segunda, resultando que ambas ondas son *catalíticas de adsorción*. [Polarograma 82]. Estudiando si alguna de las dos ondas que presenta el ácido nicotínico en estas condiciones es procedente de la adsorción de forma oxidada o reducida en la gota, para lo que polarografiamos una disolución y después volvemos a hacerlo añadiéndole previamente Eosina, comprobando que ninguna de las ondas desaparece a pesar

de la fuerte concentración de colorante adicionado, con lo que se demuestra que ninguna de las ondas es de este tipo. [Polarogramas 83 y 84].

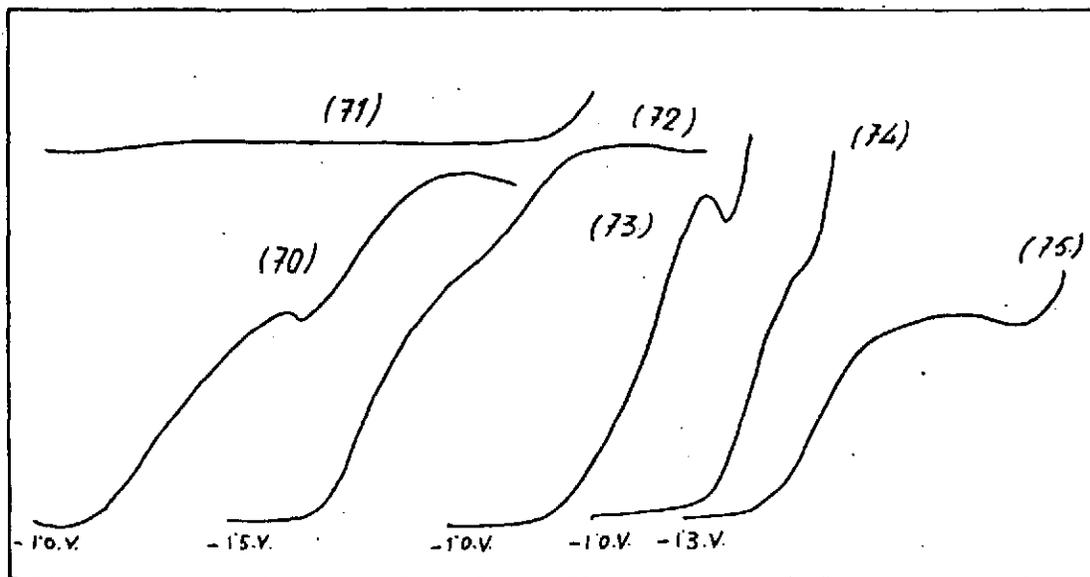
Determinamos ahora el límite inferior cuantitativo en ClK 0,1 N regulado con borato-ClH a pH 7,06 (no efectuándolo en ClK 0,1 N sin regular a pH 4,26 por no obtenerse ondas suficientemente definidas para ello); para esto trazamos los polarogramas manteniendo constantes todas las condiciones a excepción de las concentraciones de ácido nicotínico, midiendo las correspondientes alturas de onda de los polarogramas y llevando, de acuerdo con la ecuación 37, las molaridades de las disoluciones a las abscisas, y las alturas de onda h_i a las ordenadas de un papel milimetrado, comprobándose el punto correspondiente a la menor concentración de ácido nicotínico que se encuentra en línea recta.

Los valores obtenidos de la disolución en ClK 0,1 N regulado con borato-ClH a pH 7,06, procedentes del polarograma 85, se expresa en la Tabla XXX y su representación en la Gráfica 26, observando que en estas condiciones el límite cuantitativo es 10^{-3} M.

Aplicamos los criterios polarográficos de reversibilidad (44) al estudio de la onda de difusión del ácido nicotínico a pH 7,30 en disolución regulada con borato-ClH, y a las ondas catalíticas de adsorción en ClK 0,1 N sin regular a pH 4,12. En la observación directa de la figura en la pantalla oscilográfica observamos poca variación al cambiar los potenciales, por lo que sólo fotografiamos las figuras completas en los dos casos. Las fotografías 61, 62 y 63 corresponden a la onda completa de ácido nicotínico a pH 7,30 regulado con borato-ClH, y las fotografías 64, 65 y 66 son de figura completa en ClK 0,1 N sin regular en los potenciales de máxima simetría y a potenciales equidistantes del mismo. Deduciendo por la falta de simetría de las figuras que no se cumple este criterio de reversibilidad.

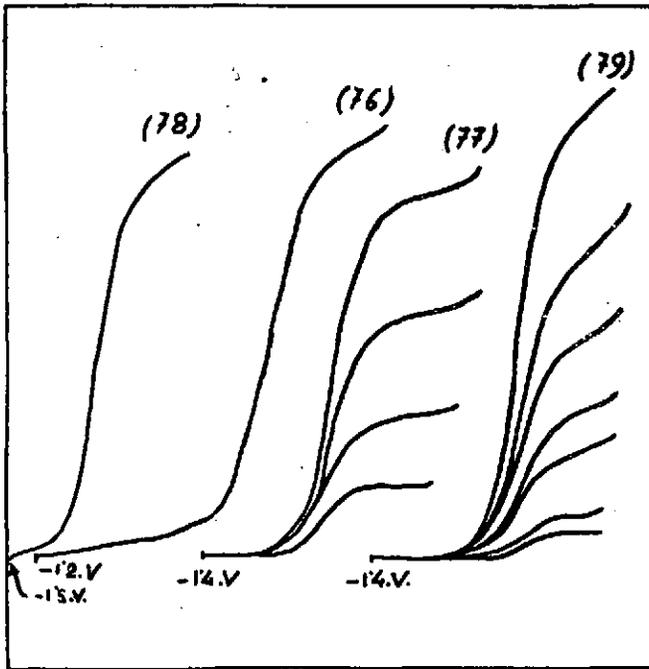
Al trazar la curva de campana con el voltímetro a válvula obtenemos los valores reseñados en la Tabla XXXI, para el ácido nicotínico regulado con borato-ClH a pH 7,30; y en la tabla XXXII para el mismo en ClK 0,1 N sin regular a pH 4,12, efectuando las respectivas representaciones en las Gráficas 27 y 28, observándose en ambos casos que la semionda catódica tiene una altura mayor que la anódica y que existe menos asimetría en la regulada a pH 7,12, que en la no regulada a pH 4,12. De donde sacamos en conclusión que en ninguno de los casos la onda de ácido nicotínico se debe a un proceso polarográficamente reversible, obediendo por lo tanto a una reacción polarográficamente irreversible.

Polarogramas del 70 al 75

*Acido nicotínico*

- 70.—Disolución 10^{-2} M en ClK 0,1 N sin regular. Sensibilidad 1/1500.
 71.—Análogo al polarograma anterior después de obtenida la sal sódica por adición de 4 cc de NaOH 0,1 N a los 20 cc de la célula. Sensibilidad 1/1500.
 72.—Disolución 10^{-3} M en ClK 0,1 N sin regular pH 4,26. Sensibilidad 1/200.
 73.—Idem. regulada con biftalato-sosa a pH 3,81. Sensibilidad 1/1000.
 74.—Idem., ídem. a pH 4,80. Sensibilidad 1/500.
 75.—Idem., ídem. a pH 5,78. Sensibilidad 1/700.

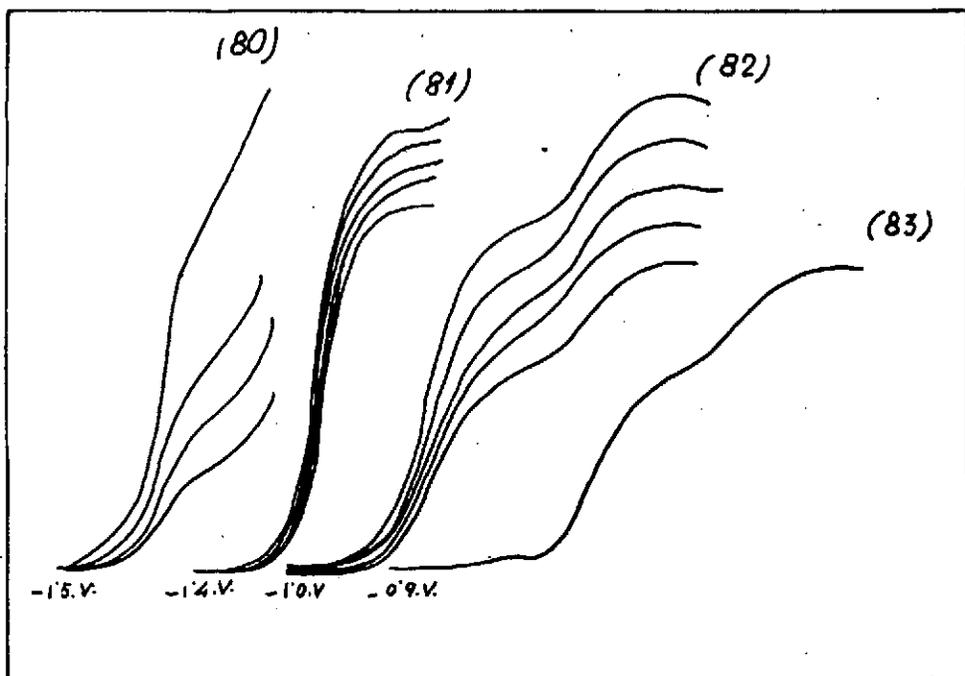
Polarogramas del 76 al 79



Acido nicotínico

- 76.—Disolución 10^{-3} M. en ClK 0,1 N regulada con biftalato-sosa a pH 6,23. Sensibilidad 1/100.
77.—Idem. regulada con borato-ClH a pH 7,20. Sensibilidad 1/1000.
78.—Idem. regulada con borato-sosa a pH 7,83. Sensibilidad 1/200.
79.—Idem., ídem. a pH 8,38. Sensibilidades 1/700, 1/500, 1/150, 1/100, 1/70 y 1/50.

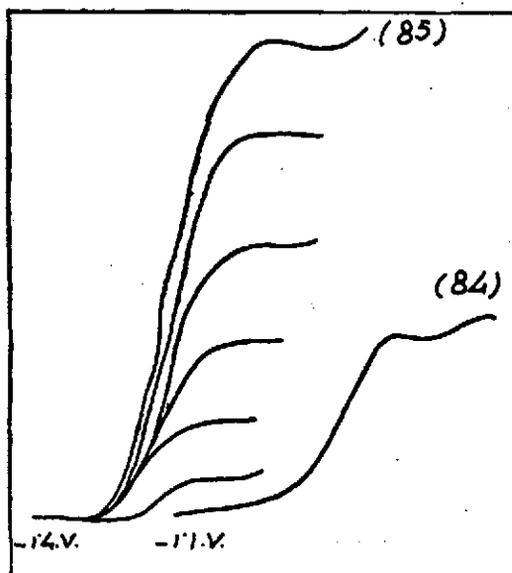
Polarogramas del 80 al 82



Acido nicotínico

- 80.—Disolución 10^{-3} M en ClK 0,1 N regulada con borato-sosa a pH 8,77. Sensibilidades 1/100, 1/70, 1/50, 1/30.
- 81.—Análisis de ondas. En ClK 0,1 N regulada con borato-ClH a pH 7,30. Sensibilidad 1/200.
- 82.—Análisis de ondas. En ClK 0,1 N sin regular a pH 4,12. Sensibilidad 1/200.
- 83.—Disolución 10^{-3} M en ClK 0,1 N sin regular a pH 4,12. Sensibilidad 1/300. Sin Eosina.

Polarogramas 84 y 85.



Acido nicotínico

84.—Disolución 10^{-3} M en ClK 0,1 N sin regular a pH 4,12. Sensibilidad 1/300. Con Eosina.

85.—Límite cuantitativo. Disolución en ClK 0,1 N regulada con borato-ClH a pH 7,06.

TABLA XXVII

ACIDO NICOTÍNICO

En disolución 10^{-3} M con ClK 0,1 N como electrolito fondo

pH	Disolución reguladora	$E\frac{1}{2}$
3,81	Biftalato	-1,33 + H
4,80	»	-1,37 + H
5,78	»	-1,56 + H
6,23	»	-1,615
7,20	Borato	-1,63
7,82	»	-1,66
8,38	»	-1,67
8,77	»	-1,665
9,72	»	Desaparece la onda

+ H significa que se mide el potencial de onda media de la onda total que forma con la de hidrógeno.

TABLA XXVIII

Disolución 10^{-3} M de ácido nicotínico, en disolución reguladora borato-NaOH a $pH=7,30$, con ClK 0,1 N de electrolito fondo

H	$\log H$	hi	$\log hi$
320	2,505	64,5	1,809
370	2,568	68,5	1,835
420	2,623	72	1,857
470	2,672	75	1,875
520	2,716	78	1,892

H es la altura de mercurio en mm, y hi es la altura de onda en las mismas unidades.

TABLA XXIX

Disolución 10^{-3} M de ácido nicotínico en ClK 0,1 N de electrolito fondo $pH = 4,12$

H	$\log H$	hi	$\log hi$
Onda 1. ^a			
320	2,505	31,5	1,498
370	2,568	37	1,568
420	2,623	42	1,623
470	2,672	48	1,681
520	2,716	53	1,724
Onda 2. ^a			
320	2,505	15	1,176
370	2,568	16	1,204
420	2,623	17	1,230
470	2,672	19	1,278
520	2,716	20	1,301

Siendo H la altura de mercurio en mm, y hi la altura de la onda en idénticas unidades.

TABLA XXV

Acido nicotínico en disolución reguladora borato-NaOH, a pH=7,06, con ClK 0,1 N de electrolito fondo

Concentraciones	hi en mm
10^{-2} M	85
$8 \cdot 10^{-3}$ M	68
$6 \cdot 10^{-3}$ M	49
$4 \cdot 10^{-3}$ M	31
$2 \cdot 10^{-3}$ M	16
10^{-3} M	7

TABLA XXXI

Disolución 10^{-3} M de ácido nicotínico en disolución reguladora borato-ClH, con ClK 0,1 N de electrolito fondo

pH=7,30; Altura de mercurio=300 mm; Tiempo de goteo=1,9 sg.

ONDA COMPLETA		SEMIONDA ANÓDICA		SEMIONDA CATÓDICA	
Potenc.	Volt.	Potenc.	Volt.	Potenc.	Volt.
— 1,450	28	— 1,450	16	— 1,450	15
500	28	500	16	500	15
525	28,5	525	15,5	525	15,5
550	28,5	550	15,5	550	16,5
575	28,5	575	15	575	17
600	28,5	600	15	600	16,5
625	28,5	625	15,5	625	15,5
650	28,5	650	15,5	650	15
675	28,5	675	16,5	675	15
700	28,5	700	16	700	15
725	28,0	725	15	725	15
750	27,5	750	15	750	15
775	27,5	775	15		
800	28,5	800	15		
825	29,5	825	15,5		

Mando de barrido de alterna en 30 mV de amplitud.
Corriente alterna de la red a 110 V y 50 c. p. s.



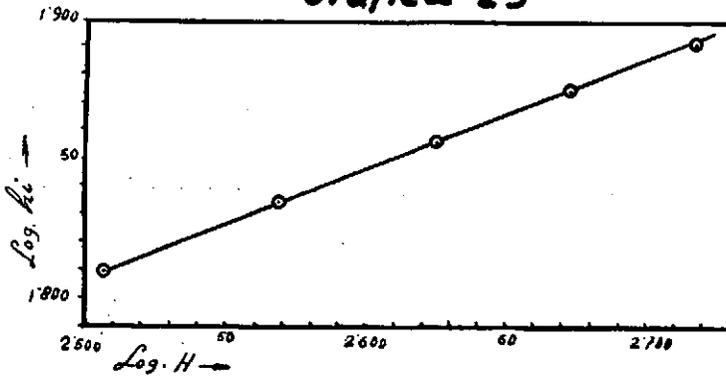
TABLA XXXII

Disolución 10^{-3} M de ácido nicotínico, en disolución de ClK 0,1 N
de electrolito fondo

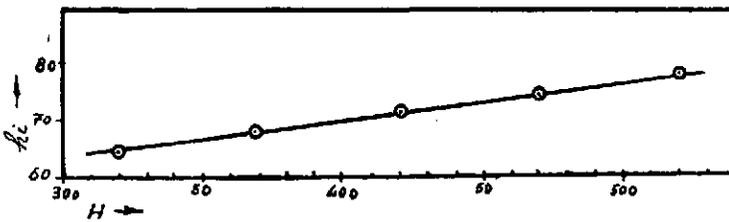
pH=4,12; Altura de mercurio=230 mm; Tiempo de goteo=2 sg.

ONDA COMPLETA		SEMIONDA ANÓDICA		SEMIONDA CATÓDICA	
Potenc.	Volt.	Potenc.	Volt.	Potenc.	Volt.
- 1,100	30,5	- 1,100	17,5	- 1,100	16
125	30,5	125	17	125	15,5
150	31	150	17	150	16
175	31,5	175	17	175	16
200	32	200	17	200	16,5
225	32	225	17	225	17
250	31,5	250	17	250	18
275	31,5	275	17	275	18,2
300	31,5	300	17	300	18
325	31,5	325	17	325	18,5
350	31,5	350	17	350	18,5
375	31,5	375	17	375	18,5
400	31,5	400	17	400	18,5
450	31,5	450	17	450	19
500	31,5	500	17	500	19,5
550	31,5	550	17,5	550	18
600	30,5	600	17,5	600	16,5
650	29,5	650	17	650	16
675	29	675	16	675	16
700	29	700	15,5	700	16
750	29	750	15	750	16

Grafica 23

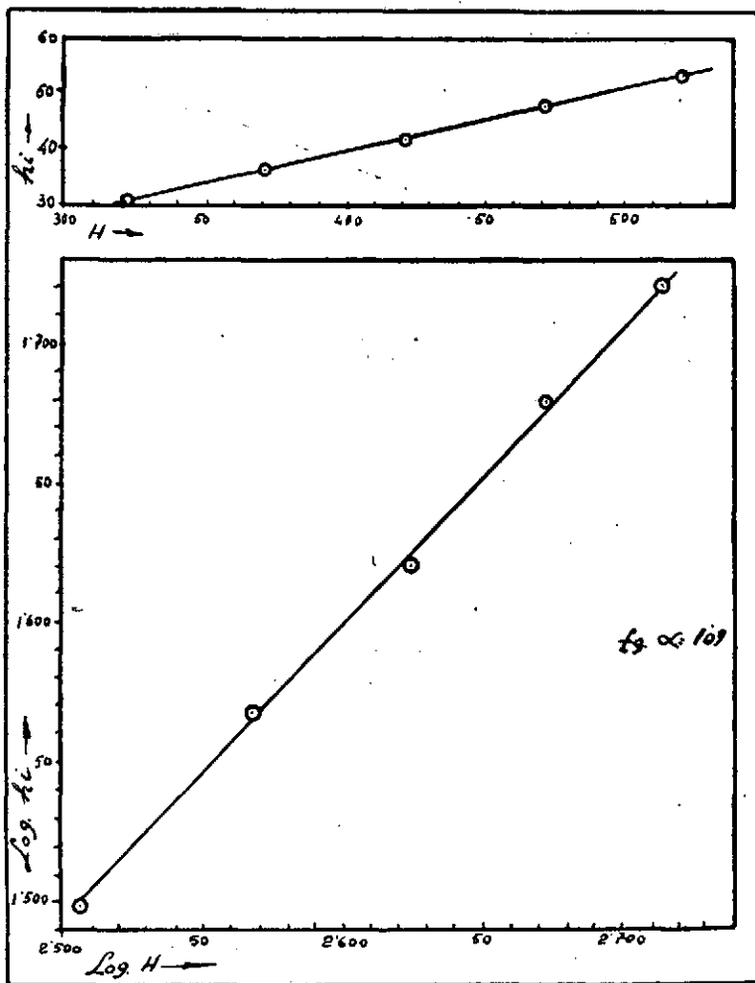


Grafica 24



Análisis de la onda de ácido nicotínico en ClK 0,1 N regulando con borato-sosa a pH 7,30

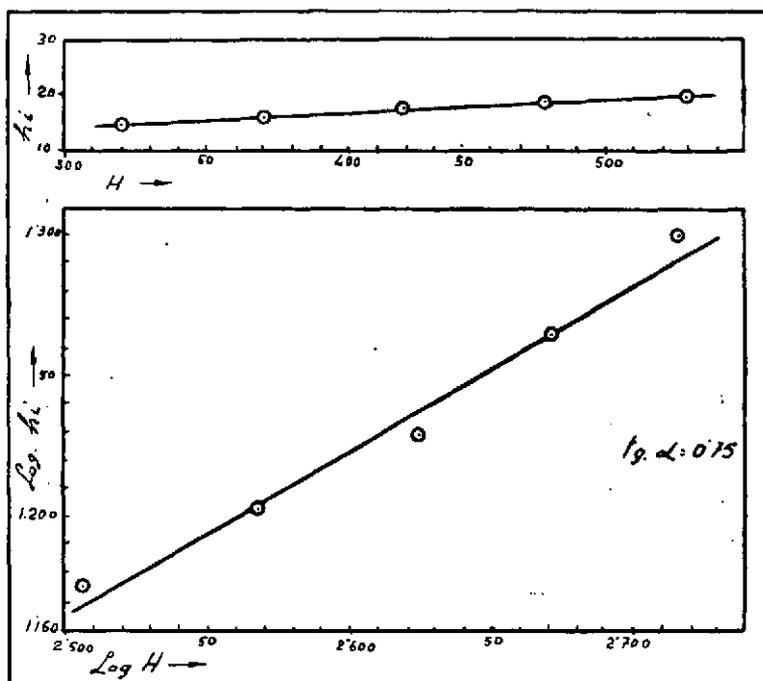
Grafica 25



Análisis de la 1.^a onda del ácido nicotínico en ClK 0,1 N sin regular a pH 4,12

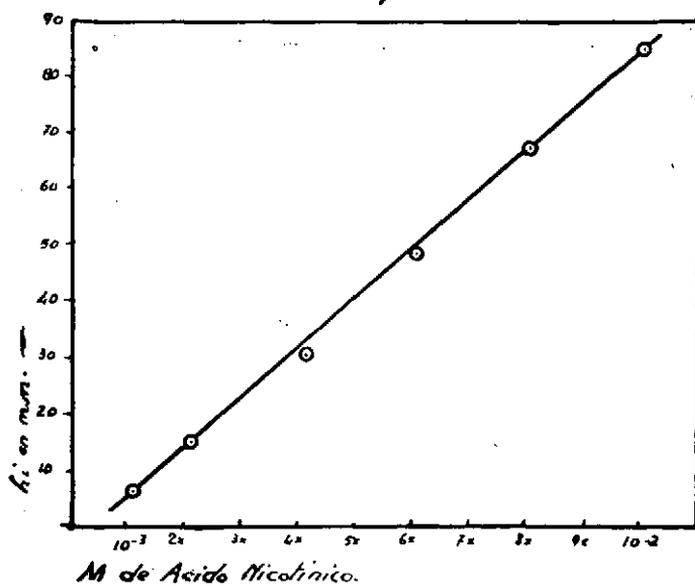


Grafica 25-A.



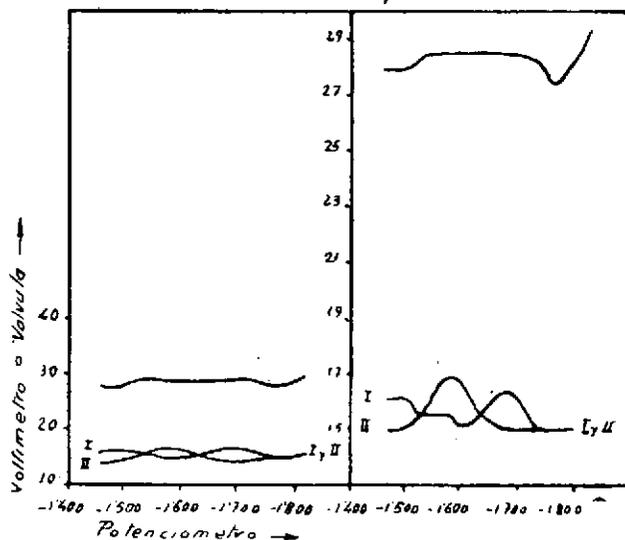
Análisis de la 2.^a onda de ácido nicotínico en ClK 0,1 N sin regular a pH 4,12

Grafico 26



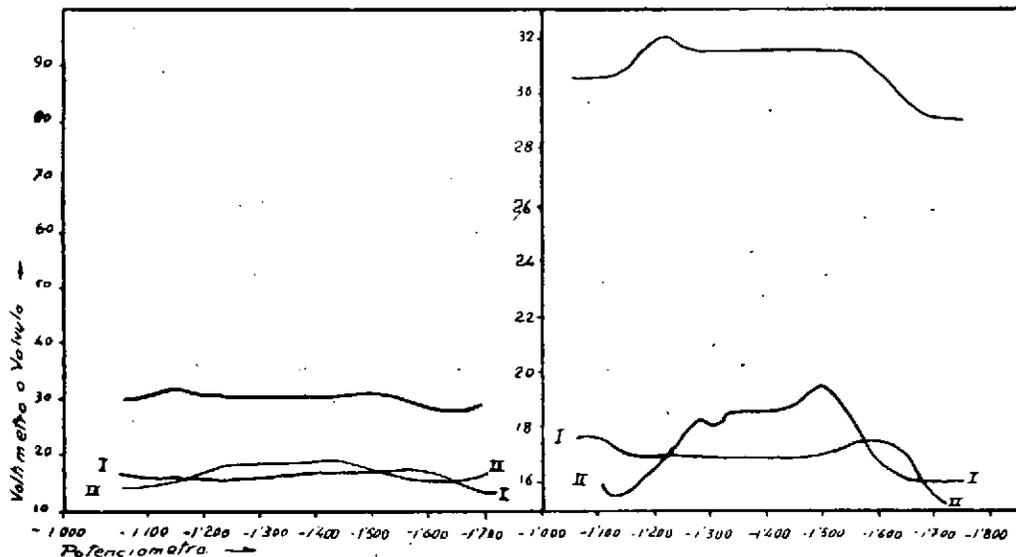
Límite cuantitativo de la onda de ácido nicotínico en ClK 0,1 N regulado con borato-clorhídrico a pH 7,56

- Grafica 27



Curva de campana de la onda de ácido nicotínico en CIK 0,1 N regulando con borato-ácido clorhídrico a pH 7,30

Grafica 28



Curva de campana de la onda de ácido nicotínico en CIK 0,1 N sin regular a pH 4,12

Acido Nicotínico, disolución 10^{-3} M en ClK 0,1 N, regulada
con borato-ClH a pH=7,30

Fotog. 61



-1,625 V

Fotog. 62



-1,675 V

Fotog. 63



-1,725 V

Acido Nicotínico, disolución 10^{-3} M en ClK 0,1 N sin regular
a pH = 4,12

Fotog. 64



-1,300 V

Fotog. 65



-1,350 V

Fotog. 66



-1,400 V

DISCUSIÓN Y COMENTARIOS

Del estudio oscilopolarográfico realizado con la tiamina sacamos en consecuencia:

Que la tiamina presenta disuelta en ClK 0,1 N, regulado con borato-NaOH a pH 9,40, una onda anódica de difusión casi reversible que va desde $-0,30$ V a $-0,60$ V con $E_{1/2} = -0,440$ V, reversibilidad que viene demostrada por:

a) La aparición de una postonda de adsorción de la forma oxidada en la superficie de la gota.

b) Los criterios oscilopolarográficos de reversibilidad (44) a excepción de la comprobación de simetrías a potenciales equidistantes del de máxima simetría, que sólo es utilizable en los casos de perfecta reversibilidad.

c) Las curvas de campana con el voltímetro a válvula, las cuales a su vez nos permiten la detección y reconocimiento de la postonda de adsorción de la forma oxidada.

Fuera de las condiciones anteriormente indicadas las ondas polarográficas debidas a la tiamina son irreversibles, como se consigna en la literatura.

La onda de tiamina en las condiciones de reversibilidad reseñadas, tiene una altura de onda proporcional a la concentración hasta el límite $2 \cdot 10^{-4}$ M frente a un límite de $3 \cdot 10^{-4}$ M que tiene la onda catódica obtenida por disolución en ClK 0,1 N sin regular a pH 4,42, lo que hace preferible para trabajos cuantitativos operar con la onda anódica en las condiciones de casi reversibilidad; demostrándonos también que es posible emplear las disoluciones de tiamina en el rango ácido a pH 4,42 en ClK 0,1 N sin regular para su determinación polarográfica cuantitativa.

El trabajo oscilopolarográfico realizado con la riboflavina nos demues-

tra, que la onda polarográfica de ésta, tiene su máxima reversibilidad a pH 10,54 en CIK 0,1 N, regulado con borato-NaOH, no siéndolo en CIK 0,1 N, como nos dice la bibliografía (38), como lo demuestra el cumplimiento de todos los criterios oscilográficos de simetría. Mostrándonos también esta simetría, las curvas de campana con el voltímetro a válvula.

Al hallar el límite inferior cuantitativo de la riboflavina, hallamos éste, en las condiciones de máxima reversibilidad (trabajando con las sensibilidades usuales del aparato) en $1,6 \cdot 10^{-5}$ M y trabajando en sensibilidades máximas hallamos el límite a concentración 10^{-6} M. En cambio en CIK 0,1 N sin regular el límite cuantitativo se encuentra en la concentración $4 \cdot 10^{-5}$ M; LINGANE y DAVIS consideran este límite en 10^{-6} M.

Se demuestra la detección de ondas polarográficas de adsorción de la forma reducida en la superficie de la gota en las curvas del voltímetro a válvula, distinguiéndose esta clase de ondas de las ordinarias, en que las de adsorción de forma oxidada o reducida tienen igual altura en las semiondas anódica y catódica que en la onda completa, mientras que las ondas ordinarias siempre tienen menor altura en las semiondas que en la onda completa.

Al efectuar el trabajo polarográfico de la nicotinamida, hallamos la onda mejor definida en CIK 0,1 N regulado con borato-NaOH a pH 9,86 y en CIK 0,1 N sin regular a pH = 6,30; y que las ondas polarográficas obtenidas en ambas condiciones son catalíticas de adsorción, las cuales pueden emplearse en la determinación cuantitativa hasta concentraciones $4 \cdot 10^{-4}$ M en CIK, 0,1 N sin regular a pH = 6,30, y $2 \cdot 10^{-4}$ M en CIK 0,1 N regulado con borato-NaOH a pH 9,86. Deduciéndose de la carencia de simetría de sus figuras y de la diferencia de altura entre las semiondas anódica y catódica, que no cumplen ningún criterio de reversibilidad, por lo que puede afirmarse que son irreversibles, lo que está de acuerdo con la literatura (16) y (17).

En el trabajo polarográfico del ácido nicotínico hallamos que hasta pH 6,23 interfiere la onda de hidrógeno, apareciendo en este valor de pH la onda de nicotínico clara y definida, aumentando la pendiente y altura de la onda al aumentar los valores de pH, hasta un valor de 7,20 (regulando con borato-ClH) a partir del cual la onda empieza a decrecer hasta desaparecer por completo a pH 9,72, regulando con borato-NaOH, lo que nos dice que la onda desaparece al hallarse todo el nicotínico en forma de sal sódica, sucediendo lo mismo a LINGANE y DAVIS al pasar el nicotínico a la forma de sal potásica.

Al hallar el límite inferior cuantitativo del nicotínico a pH 7,20 en CIK 0,1 N, regulado con borato-ClH, hallamos éste a la concentración de 10^{-3} M, no coincidiendo este punto con el hallado por LINGANE y DAVIS.

que lo fijan en $6 \cdot 10^{-1}$ M, si bien ellos regulan con fosfato, a pesar de manifestar que las mejores ondas de nicotínico aparecen regulando con borato, lo que sí está de acuerdo con lo observado por nosotros.

Obtenemos que las ondas de nicotínico en ClK 0,1 N sin regular a pH 4,12 son efectivamente ondas catalíticas, de acuerdo con LINGANE y DAVIS, así como también a pH 7,30, regulando con borato-ClH.

Al aplicar los criterios oscilográficos de reversibilidad a la onda del ácido nicotínico, observamos que no los cumple, por lo que se debe a un proceso irreversible.

Sacamos en consecuencia que para reconocer y valorar polarográficamente, en una disolución que contenga tiamina, riboflavina, nicotinamida y ácido nicotínico, interfiriéndose al mínimo las ondas de cada una de ellas, en ClK 0,1 N como electrolito fondo, es conveniente su determinación en las siguientes condiciones:

a) La tiamina a pH 9,52 regulando con borato-NaOH, en la onda anódica que se inicia en $-0,3$ V y finaliza a $-0,57$ V en la máxima amplitud en el polarógrafo. La onda catódica empieza a $-1,43$ V y termina a $-1,6$ V.

b) En la riboflavina a pH 10,52 - 10,54 regulando con borato-NaOH, la onda empieza a $-0,575$ V y termina a $-0,75$ V.

c) En la nicotinamida a pH 9,87, regulando con borato-NaOH, empieza la onda a $-1,6$ V y termina a $-1,9$ V, no interfiriendo las ondas de la tiamina ni de la riboflavina.

d) En el ácido nicotínico a pH 7,20 regulando con borato-ClH, empieza la onda a $-1,52$ V, terminando a $-1,75$ V, interfiriendo esta salida un poco la iniciación de la onda de nicotinamida, lo que si bien no interfiere la detección cualitativa, hace en cambio que no puedan determinarse juntos el nicotínico y la nicotinamida cuantitativamente sin error.

No estando de acuerdo con la detección polarográfica de tiamina, riboflavina y nicotínico en ClK 0,1 N sin regular efectuada por LINGANE y DAVIS (1), puesto que en estas condiciones la onda catódica de tiamina va de $-1,15$ V a $-1,45$ V; la nicotinamida de $-1,6$ V a $-1,83$ V; y el ácido nicotínico tiene una primera onda que va de $-1,07$ V a $-1,45$ V y la segunda onda desde $-1,5$ V a $-1,7$ V, por lo que podemos comprobar que se interfieren la onda de tiamina con la primera de ácido nicotínico, y también aunque menos la onda de nicotinamida con la segunda onda de ácido nicotínico.

CONCLUSIONES

1.^a Se hace un estudio en ClK 0,1 N como electrolito fondo de los sistemas reguladores: glicocola-ClH, glicocola-NaOH, borato-ClH, borato-NaOH, biftalato-ClH, biftalato-NaOH, acético, acético-NaOH, cítrico-fosfato y disolución reguladora de Veibel; resultando ser más adecuados:

a) El sistema biftalato-ClH en valores de pH de 1,81 a 3,22, en el intervalo de 0,0 a $-1,15$ V.

b) El sistema biftalato-NaOH en valores de pH de 3,87 a 6,68, desde 0,0 a $-1,8$ V.

c) El sistema borato-ClH a valores de pH de 7,6 a 9,2, desde 0,0 a $-2,0$ V; y

d) El sistema borato-NaOH a valores de pH de 9,2 a 11,0, de 0,0 a $-2,0$ V.

2.^a En ClK 0,1 N sin regular y en un amplio rango de pH con los sistemas reguladores elegidos se efectúa el estudio de las ondas, consignando su iniciación y terminación, así como los valores de $E_{1/2}$. Hallando las ondas más claras y definidas de tiamina en ClK 0,1 N sin regular a pH 4,40 y en ClK 0,1 N regulado con borato-NaOH a pH 9,50 (catódica y anódica respectivamente); para la riboflavina la onda en ClK 0,1 N sin regular a pH 6,00 y en ClK 0,1 N regulada con borato-NaOH a pH 10,52; para la nicotinamida en ClK 0,1 N sin regular a pH 6,30 y en ClK 0,1 N regulada con borato-NaOH a pH 9,83; y para el ácido nicotínico en ClK 0,1 regulada con borato-ClH a pH 7,20.

3.^a Se estudia la clase de ondas obtenidas en ClK 0,1 N sin regular y reguladas en las condiciones descritas en la 2.^a conclusión, obteniendo:

a) Que la onda catódica de tiamina en ClK 0,1 N sin regular es una onda de difusión, la onda anódica en ClK 0,1 N regulado con borato-NaOH a pH 9,40, es de difusión y va seguida de una postonda de adsorción.

b) Que la onda de la riboflavina tanto en ClK 0,1 N sin regular a pH 6,00, como en ClK 0,1 N regulado con borato-NaOH a pH 10,52 es de difusión.

c) Que la onda de nicotinamida en ClK 0,1 N sin regular a pH 6,30 y regulado con borato-NaOH a pH 9,83 es una onda catalítica de adsorción.

d) Que las dos ondas consecutivas de ácido nicotínico en ClK 0,1 N sin regular a pH 4,12 son ondas catalíticas de adsorción; y que la onda que se obtiene en ClK 0,1 N regulada con borato-ClH a pH 7,30 es una onda catalítica.

4.^a Hallamos los siguientes límites inferiores cuantitativos para las vitaminas estudiadas:

a) Para la tiamina (onda catódica) en ClK 0,1 N sin regular a pH 4,40 $3 \cdot 10^{-4}$ M, y regulada con borato-NaOH (onda anódica) a pH 9,40 $2 \cdot 10^{-4}$ M.

b) Para la riboflavina en ClK 0,1 N sin regular a pH 6,35 $4 \cdot 10^{-5}$ M; y cuando se regula con borato-NaOH a pH 10,54, con sensibilidades usuales (1/50) $1,6 \cdot 10^{-5}$ M y a sensibilidades máximas (1/10) 10^{-5} M.

c) Para la nicotinamida en ClK 0,1 N sin regular a pH 6,44, $4 \cdot 10^{-4}$ M, y en ClK 0,1 N regulando con borato-NaOH a pH 9,86, $2 \cdot 10^{-4}$ M.

d) Para el ácido nicotínico en ClK 0,1 N regulado con borato-ClH a pH 7,06, la concentración 10^{-5} M.

5.^a Que la onda anódica de difusión de la tiamina obedece a un proceso casi reversible en ClK 0,1 N regulando con borato-NaOH a pH 9,40, siendo irreversible la onda catódica obtenida en ClK 0,1 N sin regular.

6.^a Que la onda de difusión de la riboflavina en ClK 0,1 N regulando con borato-NaOH a pH 10,52 es perfectamente reversible, por cumplir todos los criterios oscilopolarográficos, no siéndolo en ClK 0,1 N sin regular a pesar de ir precedida de una preonda de adsorción de la forma reducida en la superficie de la gota.

7.^a Que la nicotinamida, tanto en ClK 0,1 N sin regular a pH 6,30, como regulado con borato-NaOH a pH 9,83 obedece a un proceso polarográficamente irreversible de reducción.

8.^a Que el ácido nicotínico tanto en ClK 0,1 N sin regular a pH 4,12 como regulado con borato-ClH a pH 7,20 obedece a un proceso polarográficamente irreversible.

9.^a Se da un nuevo método rápido y seguro para el reconocimiento de las preondas y postondas debidas a la adsorción en la superficie de la gota de mercurio, de las formas reducida y oxidada, basado en que al trazar las curvas de campana con el voltímetro a válvula, las alturas de las ondas de este tipo tienen igual altura en la curva completa que en las se-

miondas anódica y catódica, método que además del reconocimiento de las indicadas preondas y postondas nos permite fijar al mismo tiempo una orientación acerca de su reversibilidad.

10.^a Que el criterio de reversibilidad basado en la simetría de las figuras tanto cerradas como de barrido a potenciales equidistantes del potencial de máxima simetría, sólo es aplicable a las reacciones polarográficas de sustancias orgánicas perfectamente reversibles, por su relativamente pequeña velocidad y la influencia que sobre ellas ejerce el pH del medio.

Esta tesis ha sido realizada en el Laboratorio de Química-Física de la Facultad de Ciencias, bajo la dirección del Catedrático de la misma Dr. D. Juan Sancho Gómez.

RESEÑA BIBLIOGRAFICA

- (1) J. LINGANE y O. L. DAVIS.—*J. Biol. Chem.*, **137**, 567 (1941).
- (2) G. SARTORI y C. CATANEO.—*Gazz. Chim. Ital.*, **74**, 166 (1944).
- (3) ALBERT WOLLENBERGER.—*Science*, **101**, 386-8 (1945).
- (4) A. M. SHKODIN y G. P. TICHOMIVOVA.—*Chem. Abst.*, **47**, 8547 e (1953).
- (5) R. PLETICHA.—*Czechoslov. Farm.*, **2**, 149-53 (1953).—*Chem. Abst.*, **48**, 9835 h (1954).
- (6) BRDICKA.—*Chem. Abst.*, **31**, 323 (1937).
- (7) I. TACHI y S. KOIDE.—*Agr. Chem. Soc. Japan*, en *Chem. Abst.*, **47**, 11034 d (1953).
- (8) I. TACHI y S. KOIDE.—*Chem. Abst.*, **47**, 11034 f (1953).
- (9) I. TACHI y S. KOIDE.—*J. Agr. Chem. Soc. Japan*, **25**, 330 (1951).—*Chem. Abst.*, **47**, 11035 g (1953).—*Chem. Abst.*, **47**, 11035 i (1953).—*Chem. Abst.*, **47**, 11036 c (1953).—*Chem. Abst.*, **47**, 11036.
- (10) R. PLETICHA.—*Chem. Listy*, **806** (1953); en *Chem. Abs.* **48**, 3816 g (1954).
- (11) I. M. KOLTHOFF y J. J. LINGANE.—*Polarography*; volumen II, pág. 844. Ed. de 1952.
- (12) R. BRDICKA.—*Z. Electrochem.*, **48**, 686-93 (1942); en *Chem. Abst.*, **37**, 4842 (1943).
- (13) R. BRDICKA.—*Collection Czechoslov. Chem. Commun.*, **14**, 130 (1949).
- (14) Y. MORI y K. MURATA.—*Vitamin*, **2**, (1), 24-29 (1949).
- (15) R. PORTILLO y G. VARELA.—*Anal. R. Acad. Farm.*, **15**, 787-792 (1949).
- (16) P. C. TOMPKINS y C. L. A. SCHMIDT.—*Univ. California, Pub. Physiol.*, **8**, 237-247 (1944).
- (17) E. KNOBLOCH.—*Collection Czechoslov. Chem. Commun.*, **17**, 407 (1947).
- (18) K. WENIG y M. KOPECKY.—*Csopis. Czechoslov. Lekarnictva*, **56-59** (1943).—*Chem. Zentr.*, **1**, 34 (1944).
- (19) E. KNOBLOCH.—*Chem. Listy*, **39**, 54-61 (1945).
- (20) E. KNOBLOCH.—*Collection*, **12**, 407-421 (1947).
- (21) K. WENIG y M. KOPECKY.—*Cas. ces. Lekařn.*, **56**, 49-50 (1943).
- (22) P. C. TOMPKINS y C. L. A. SCHMIDT.—*Univ. Calif. Publ. Physiol.*, **8**, 229-236 (1943).
- (23) P. C. TOMPKINS y C. L. A. SCHMIDT.—*Univ. Calif. Publ. Physiol.*, **8**, 247-255 (1943).
- (24) P. C. TOMPKINS y C. L. A. SCHMIDT.—*J. Biol. Chem.*, **143**, 643-53 (1942).
- (25) P. C. TOMPKINS y C. L. A. SCHMIDT.—*Univ. Calif. Publ. Physiol.*, **8**, 237-245 (1943).
- (26) J. LINGANE, G. SWAIN y M. FIELDS.—*J. Am. Chem. Soc.*, **65**, 1348 (1943).
- (27) J. LINGANE.—*J. Am. Chem. Soc.*, **67**, 1916 (1945).
- (28) P. J. ELVING, O. H. MÜLLER, S. WAWZONEK, M. J. ASTLE y L. MEITES.—*Anal. Chem.*, **22**, 482 (1950).
- (29) J. B. CONNANT.—*Chem. Rev.*, **3**, 1 (1926).
- (30) M. SHIKATA e I. TACHI.—*J. Chem. Soc. Japan*, **53**, 834 (1932).
- (31) C. G. DRECK.—*J. Am. Chem. Soc.*, **33**, 1125-1162 (1911).
- (32) A. WINKEL y G. PROSKE.—*Ber.*, **69**, 1917 (1936).
- (33) C. K. INGOLD.—*Chem. Rev.*, **15**, 225 (1934).
- (34) I. M. KOLTHOFF y J. J. LINGANE.—*Polarography*, vol. II, pág. 628. Ed. (1952).
- (35) I. M. KOLTHOFF y E. F. ORLEMANN.—*J. Am. Chem. Soc.*, **63**, 644 (1941).
- (36) L. MICHAELIS.—*J. Biol. Chem.*, **96**, 703 (1932).—*Trans. Electrochem. Soc.*, **71**, 107 (1937).—L. MICHAELIS y M. P. SCHUBERT.—*Chem. Rev.*, **22**, 437 (1938).
- (37) O. H. MÜLLER.—*Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **40**, 91 (1940).
- (38) R. BRDICKA y E. KNOBLOCH.—*Z. Electrochem.*, **47**, 721 (1941).—R. BRDICKA.—*Z. Electrochem.*, **48**, 686 (1942).
- (39) W. M. CLARK, R. COHEN y H. D. GIBBS.—*Public. Health Reports*, **40**, 1155 (1925).
- (40) K. WIESNER.—*Collection Czechoslov. Chem. Commun.*, **2**, 594 (1947).
- (41) A. RODRIGUEZ y J. SANCHO.—*Anal. R. S. E. de F. y Q. Serie B.*—Tomo XLIX, 657 (1953).
- (42) F. DANIELS, J. H. MATEWS y J. M. WILLIAMS.—*Prácticas de Química-Física*.—Ed. M. Marín (Barcelona).
- (43) F. A. FER YANGHICH.—*Trudy Komissii. Anal. Khim. ot del Khim. Nauk Akad. Nauk.*—S. S. R. C. A., **2**, (5), 87, 9 (1949).
- (44) J. ALBALADEJO.—*Estudios de procesos reversibles e irreversibles en el electorodo de gotas*. Anal. de la Univ. de Murcia, vol. XIII -Ciencias, 361 (1954-55). J. ECHEVERRÍA BENGOA.—Anal. de la Univ. de Murcia, vol. XIV -Ciencias, 121 (1955-56).
- (45) I. M. KOLTHOFF y J. J. LINGANE.—*Polarography*.—Vol. I, pág. 259. Ed. 1952.
- (46) I. M. KOLTHOFF y J. J. LINGANE.—*Polarography*.—Vol. I, pág. 263. Ed. 1952.
- (47) I. M. KOLTHOFF y J. J. LINGANE.—*Polarography*.—Vol. I, pág. 262 Ed. 1952.



SECCION BIBLIOGRAFICA

Haehn, Hugo.—BIOQUIMICA DE LAS FERMENTACIONES.—Editorial Aguilar. Madrid, 1956. 653 páginas.

La editorial Aguilar nos presenta traducida a nuestro idioma la obra del profesor Haehn, antiguo colaborador de Eduard Buchner, *Biochemie der Gärungen*.

Dicha obra constituye una sistematización de los conocimientos actuales en el campo de la tecnología de las fermentaciones; pero no es una simple recopilación de labor extraña al autor, sino que junto a ella, incluye éste su propia experiencia personal, seleccionada con el buen criterio de quien ha pasado su vida como investigador aplicado, primero en la Escuela Superior Agrícola de Berlín, después en la Universidad de Breslao y finalmente, durante largos años, en el Instituto de las Industrias de la Fermentación de Berlín.

La aplicación de los microorganismos como *obreros químicos*, trabajo del que se ha venido aprovechando la Humanidad desde sus primeras etapas con las fermentaciones alcohólica y acética, sin conocer realmente a qué se debían hasta que a principios del siglo pasado, hace escasamente 120 años, se llegó a la atribución de la naturaleza vegetal a las levaduras que la producen (Gagniard Latour, Theodor Schwann y Friedrich Kützing), sin una demostración concluyente, labor que precisó el genio de un Pasteur veinte años más tarde, ha evolucionado en los últimos años, no sólo en lo que respecta a lo que pudiéramos llamar «fermentaciones antiguas» (alcohólica, acética, proteínica, ligada al proceso de maduración del queso) sino también en la introducción en la técnica de nuevos procesos, como: la fabricación de levaduras, alimento perfecto del hombre y del ganado; de diversos ácidos orgánicos; de disolventes y posibles combustibles para el motor de explosión; y, finalmente, de sustancias de actividad antimicrobiana extraordinaria que han constituido en manos del clínico



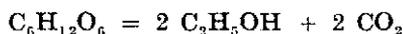
una herramienta inapreciable en la lucha contra enfermedades que hasta entonces habían determinado, a pesar de conocerse su etiología, problemas insolubles.

La obra está dividida en siete partes, comprendiendo cada una uno o varios capítulos.

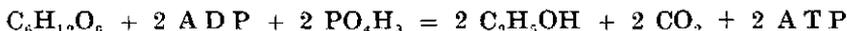
La primera se ocupa del establecimiento de los conceptos de fermentación y putrefacción; de la historia de la fermentación química a partir del supuesto inventor del arte destilatorio, San Patricio, pasando por Alberto el Magno, Helmont, Lavoisier, Gay-Lussac, Neuberger, Adolf von Baeyer..., hasta el esquema de A. Wohl en 1914 aun lejos de lo que actualmente es admitido y se establece una clasificación de los procesos fermentativos, en la cual se incluyen junto a los que verdaderamente y de acuerdo con el concepto actual deben considerarse como tales, es decir, las transformaciones anaeróbicas de los hidratos de carbono o desintegraciones desmólicas, aquellos que precisan de la intervención del oxígeno, como la oxidación del alcohol al ácido acético, que realmente no deben considerarse como fermentaciones, si bien el autor emplea para ellas el nombre de *fermentaciones oxidantes*, tal vez no del todo correcto.

La parte segunda comprende la descriptiva y clasificación de la flora determinante de las fermentaciones, con un capítulo en el cual se estudian los fundamentos de su alimentación, cultivo y métodos de investigación.

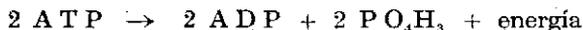
La tercera estudia la Química y Fisiología de las levaduras con capítulos muy completos sobre fitohormonas y bios, vitaminas y enzimas. La teoría de la fermentación alcohólica, detenida en la hipótesis de Wohl en un capítulo anterior, se completa con las de C. Neuberger (1913), de A. von Lebedew (1914), con el aislamiento del primer fosfato de azúcar, el ácido 1-6-fructosa-difosfórico por Harden y Young unos años antes, de Embden y Meyerhof en la que ya intervienen los ésteres fosfóricos; hasta llegar a un esquema fundado en los hechos experimentales más seguros, como los ensayos de Negelein y Brömel, Warburg y Christian, Lohmann y Schuster, y Nielsson, que sustituye al antiguo de Gay Lussac



por la ecuación



que corresponde a la energética:



La cuarta parte examina los fundamentos de la tecnología de las fermentaciones alcohólicas con capítulos destinados a la preparación de la cerveza, al cultivo puro de levaduras y a la fabricación del vino y espirituosos y a la síntesis bioquímica de proteínas.

En la quinta parte se estudian las formas especiales de fermentación por levaduras: glicérica, de aminoácidos (aceites de fusel) y succínica.

La sexta completa la cuarta con los preparados de levadura y prueba de fermentación.

Finalmente, en la última parte se recogen los restantes procesos de degradación de los glúcidos que no son provocados por levaduras, sino por bacterias y mohos, iniciándolo con la reacción de Wood-Werkman (1936-38): aprovechamiento del dióxido de carbono por bacterias, levaduras y mohos como sustratos de fermentaciones, por ejemplo en la reacción de Ochoas (carboxilación hidrogenante con formación de ácido málico). Entre aquellos se estudian las fermentaciones desmólicas: láctica, propiónica, butírica y acetobutánicas, y las aeróbicas, con desdoblamiento desmólico: fumárica, cítrica y oxálico, así como las aeróbicas puras: glucónica, dioxiacetónica y acética. De esta última se expone su técnica con detalle y extensión superiores a las restantes.

En conjunto la obra que comentamos, completada con una amplia bibliografía, constituye una aportación muy interesante para el Químico, el Bacteriólogo y el Tecnólogo que se ocupen del campo de las fermentaciones.

La editorial Aguilar, como es en ella habitual, presenta magníficamente esta traducción, realizada correctamente por I. Bolívar y D. Alonso, Químicos de la Unión Alcohólica Española.

A. Soler

Morris W. Travers.—A LIFE OF SIR WILLIAM RAMSAY.—Ed. Edward Arnold (Publishers) Ltd. Londres, 1956. 308 págs.

La vida de Ramsay, hasta en sus pormenores más nimios, es un constante ejemplo, tanto desde el punto de vista humano en general, como en cuanto a su aspecto científico. No es de extrañar por ello, como dice Travers, que hayan varias publicaciones sobre este tema. La más antigua es la breve reseña incluida por W. Ostwald en su libro *Vergangenes und Künftiges aus der Chemie* (Leipzig, 1913), escrita por el propio Ramsay a requerimiento de Ostwald, y en la que ya pone de manifiesto la influencia que tuvieron sus ancestrales, sus primeros contactos y su formación, en su vida y en su obra. Por otro lado, a su muerte en 1916, se hicieron muchos actos en su memoria, en los que naturalmente se prodigaron noticias sobre su biografía.

Una obra bien acabada, que precedió a la que hoy reseñamos, es la publicada por Sir William Tilden, en 1918, con el nombre de *Memoir of Sir William Ramsay* (Macmillan & Co. Ltd.) en la que se recogieron muchos de los aspectos de la vida privada y científica de Ramsay, captados, parcialmente, a través de las relaciones Tilden-Ramsay y, en gran parte, por relato directo de sus colaboradores y otros científicos contemporáneos, así como por información suministrada por Lady Ramsay. Pero en realidad Tilden no pudo vivir íntimamente la vida científica de Ramsay, pues sus relaciones con él fueron más bien de tipo social.

Otro caso distinto es el del Profesor Travers, que, aunque veinte años más joven que Ramsay, fué colaborador suyo en Bristol y en Londres, y pudo naturalmente captar la forma de ser y de actuar de su maestro, en la intimidad del laboratorio, y que contó además, para la redacción de esta Biografía, con

una mayor riqueza de documentos, encontrados a la muerte de Lady Ramsay, y que ella sin duda guardaba pensando en una biografía futura. El Profesor Travers, ya hizo uso de los diarios y notas de Ramsay, cuando en 1928, publicó *The Discovery of the Rare Gases*.

La obra que nos ocupa fué iniciada en 1952, al cumplirse el Centenario del nacimiento de Ramsay. El autor pretende, y logra, realizar un estudio analítico del trabajo de aquél en el campo educativo y en el de la ciencia, trazando en lo posible el desarrollo de sus ideas y de los métodos experimentales que él empleó y dando una clara visión de cómo los mismos iban amoldándose a las variaciones del conocimiento y opiniones reinantes en la época.

El libro, escrito con una acertada sencillez y amenidad, constituye una lectura continua. Consta de 21 capítulos de elevado interés, puesto que a lo largo de ellos se deslizan noticias y situaciones, personales o de grupo, que tal vez afectan al lector o a la sociedad, en la que el mismo se desenvuelve.

En el capítulo I dedicado a su origen, niñez y juventud, se concluye que su orientación hacia la química no fué resultado hereditario, aunque sí su aptitud para la Ciencia, pues todos sus familiares cultivaron y destacaron en alguna de sus ramas (por ejemplo, su padre en Matemáticas), independientemente de la profesión que desempeñaban (por línea paterna casi todos los familiares fueron tintoreros, y por la materna médicos). Se destaca también la forma en que, desde niño, se desenvuelve en sus juegos, siempre razonándolos y planeándolos de antemano, sus primeros contactos con la Química de Graham, su curiosidad química en los estudios secundarios y sus primeros experimentos caseros, con material improvisado.

Al tratar de la entrada en la Universidad de Glasgow se hacen consideraciones sobre el estado de la Química en Inglaterra, y se deduce, que en aquella época ésta todavía no ha alcanzado madurez suficiente para que alguien pudiese elegirla como profesión, y el propio Ramsay hubo de conformarse con seguir los estudios químicos elementales que se consideraban básicos para los estudiantes de medicina. Su formación química práctica la completó con Tatlock, analista de la ciudad, que junto a la labor de rutina llevaba a cabo incluso ciertos trabajos de investigación. Se resalta, en este capítulo, también, la influencia que tuvieron en Ramsay, las clases de Filosofía Natural, de Sir William Thompson, siendo curioso el juicio que merecen a aquél las condiciones pedagógicas de Lord Kelvin. Este amplio capítulo está muy bien desarrollado.

Al tratar, en el capítulo II, el período de postgraduado de Ramsay y hablar de su doctorado con Fittig, en Tübingen, se analiza la manifiesta diferencia del estado de la Química en Alemania, con respecto a Inglaterra. Igualmente, se especula sobre cuáles son los temas usuales para tesis doctorales, y la preponderancia que se daba a la Química Orgánica (Tesis de Ramsay: *Investigaciones sobre los Ácidos toluoicos y nitrotoluoicos*).

En el capítulo III, se relata la iniciación de sus actividades docentes en Glasgow (Anderson College) y de pasada se refieren las limitaciones que tenía un profesor en el desarrollo de su asignatura, se habla de las técnicas que allí practicó y de sus varios trabajos en el campo de la Química Orgánica, que era la asignatura de su predilección, entonces.

Muy fundamental para la vida científica de Ramsay, fué su nombramiento para la cátedra de Química en University College, de Bristol, y las vicisitudes

de su nombramiento y las del propio University College, constituyen la base del capítulo IV.

El capítulo V está dedicado a la época en que Ramsay pasó a ser cabeza de University College, su dedicación intensiva a la Química Física, la captación de colaboradores y, en especial, la de Sydney Young, otro doctor discípulo de Fittig. Hace alusión a otros varios colaboradores, entre los que se cuenta el propio Travers, autor de esta biografía, y sobre todo destaca la especial visión que Ramsay tenía de los problemas y la facilidad para sugerir la forma de abordarlos. Resalta, igualmente, cómo Ramsay gustaba siempre de que sus colaboradores fuesen realmente tales y no que fueran o apareciesen como meros asistentes, y cómo disfrutaba de los éxitos de aquéllos, aunque muchas veces contradijeran probablemente sus hipótesis. Travers habla de Ramsay con verdadero entusiasmo. También, en este capítulo, se dedica buena atención a labor científica en colaboración de Ramsay con Young, cristalizada en varias publicaciones. De este último aprendió Ramsay el trabajo del vidrio, haciéndose luego él un experto extraordinario, lo que le favoreció mucho en sus trabajos sobre gases.

Especial mención merece la descripción de las dificultades económicas por las que pasó University College y la campaña realizada por Ramsay en pro de la necesidad de que el Gobierno subvencionara a estos Centros, argumentando, con frecuencia, con datos concretos tomados de Alemania, país más pobre. En 1889 el Estado decidió considerar a tales Centros como Instituciones nacionales, subvencionarlos, y lo que es más interesante, al cesar la tutela privada, adquirirían automáticamente más libertad en la enseñanza y mayores posibilidades para crear centros anejos de investigación y de enseñanza avanzada, en forma semejante a como había concebido Ramsay, a raíz de su convivencia en Universidades alemanas.

En el capítulo VI, al tratar de los primeros años de Ramsay en University College, de Londres, surgen las situaciones planteadas en su elección, la forma en que estaban organizados los estudios, trabajos en marcha, actuación y méritos de su antecesor Williamson, etc.

Muy interesante desde el punto de vista científico es la escrupulosidad de detalles con que se describe en el capítulo VII la historia del descubrimiento del *argon* y las discusiones planteadas, con este motivo, con otros científicos de la época.

Los capítulos sucesivos, hasta el XI inclusive, describen el descubrimiento y aislamiento de los otros gases nobles, de ellos el VIII se ocupa exclusivamente del *helio*, y el XI se dedica al aislamiento del *neon*, *cripton* y *xenon*.

El capítulo XII se dedica al viaje de Ramsay a la India, con motivo de la creación en aquel país del *Institute of Research for India* y también son recogidas las vicisitudes de su constitución.

El capítulo XIII, un poco heterogéneo, recoge varios puntos interesantes tales como, la reorganización de la Universidad de Londres, y sobre todo muchos trozos del magnífico discurso sobre *Las funciones de una Universidad* pronunciado por Ramsay, en el que van desarrollándose conceptos de alto significado sobre lo que debe ser una Universidad en el más amplio y verdadero sentido, y la importancia que en ella debe tener la investigación, como forma más perfecta de incrementar el conocimiento. No concibe Ramsay a un profesor universitario que no sea un investigador experimentado. Intervino con entusiasmo en la reorganización de la Universidad de Londres. El Profesor Tra-

vers da un gran realismo a todas estas descripciones, puesto que siendo entonces el más íntimo colaborador de Ramsay, en Londres, vivía muy de cerca todas estas inquietudes.

El capítulo XIV es dedicado a los trabajos sobre Radioactividad, de Ramsay y colaboradores (especialmente el propio Travers), y sobre todo a los resultados de su colaboración con Soddy (colega de Rutherford), al estudiar el entronque entre los fenómenos radioactivos y la formación de helio. Se realizan incluso experimentos de transmutación artificial. Se recogen muy detalladamente las relaciones entre Ramsay y otros científicos interesados en estos problemas. Sus relaciones sobre el uso del Radio en la terapia del cáncer, le llevaron a ser uno de los directivos del *Radium Institute*, creado en 1909.

El capítulo XV al recoger las actividades extraacadémicas entre 1903 y 1909, presenta situaciones de alto interés, participación en congresos, recepción de medallas y premios (por ejemplo la medalla Lavoisier y el Premio Nóbel), discursos, etc. referidas con sencillez y objetividad, por Travers.

Su interés por los gases nobles como tales no decayó y volvió a abundar en sus investigaciones sobre la proporción de estos en el aire, especialmente sobre los más raros, *neon*, *cripton* y *xenon* e intentó la busca de otros. Las investigaciones sobre este tema realizadas después de 1901, constituyen el capítulo XVI.

Al tratarse en el capítulo XVII los experimentos que Ramsay realizó sobre transmutación de la materia, y su culminación en la síntesis del *argon* a partir de *azufre*, se recogen también las opiniones previas que fueron expresadas por distintos científicos y por él mismo en diversos discursos y exposiciones, hasta lograr desasirse de las rígidas teorías atomística y energética, mantenidas en esa época por Rutherford y Ostwald respectivamente.

El capítulo XVIII dedicado especialmente al *radon* y a estudiar en forma cuantitativa las variaciones en la serie del *radio*, mantiene su vivo interés por la descripción de métodos de trabajo en escala todavía más pequeña que los adontados en el estudio de los otros gases.

Las actividades extra académicas entre 1909 y 1914, son recogidas en el capítulo XIX, abarcando las mismas a sus viajes a Brasil, Noruega, Alemania, Argelia, etc. con diversos motivos, y también a su retiro de la cátedra, en 1912, y substitución por Donnan, un anterior colaborador de Ramsay, y últimamente Profesor de Química Física en Liverpool. Las actividades extraacadémicas entre 1914 y 1916, es decir, durante la I Guerra Mundial son objeto del capítulo XX.

El capítulo XXI está dedicado a una visión retrospectiva de lo que fué Ramsay recogida a través de las cartas de simpatía, dedicatorias, oraciones fúnebres... expresadas después de su muerte, y también se recoge en el mismo algunas actividades extracientíficas, como por ejemplo sus poesías, sus discusiones musicales, la amenidad y hasta el humorismo característico de su correspondencia, etc.

El libro que aquí nos ocupa cuenta con un breve APÉNDICE en el que se recogen los actos que habrían de realizarse en honor de Ramsay, y entre ellos cabe citar la organización del RAMSAY MEMORIAL FELLOWSHIPS TRUST, constituido con fondos de una Fundación creada en 1916, y con la aportación de varios países, entre los que debe citarse a España; el que suscribe la presente reseña ha tenido la honra de recibir uno de esos *fellowshps* durante el Curso 1953-54, que le permitió trabajar en la Universidad de Oxford, durante un año.



La reunión anual de los Ramsay Fellows pasados y presentes, en University College, de Londres, para ofrendar un recuerdo a Sir William, es una prueba constante de la admiración que merece.

Felicitemos al Profesor Travers, que en edad tan avanzada (lo ha terminado a los 83 años) ha abordado el problema de escribir sobre Ramsay, sin caer en vulgaridades y dando a su libro personalidad, pese a existir otras biografías. A la Editorial, no cabe ensalzarla por la presentación, pues en ella es usual hacerlo con la mayor escrupulosidad, pero sí por haber aceptado este tema, pese a su repetición, aunque lo hizo sin duda confiando en el prestigio del protagonista y del autor.

G. Guzmán

